

**UJI DAYA ANTIFUNGI PROPOLIS TERHADAP *CANDIDA*
ALBICANS DAN *PITYROSPORUM OVALE***

SKRIPSI

**Untuk memenuhi Sebagian Persyaratan
Mencapai Derajat Sarjana Kedokteran**



Diajukan oleh:

KHOIROTUNNISA USWATUN HASANAH

J500080049

Kepada:

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2012**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Infeksi jamur termasuk salah satu penyakit kulit yang masih merupakan masalah kesehatan di Indonesia. Menurut Adiguna (2004) prevalensinya mencapai 27,6% berdasarkan data dari berbagai rumah sakit pendidikan. Infeksi jamur dapat dibagi menjadi infeksi superfisial dan profunda. Diantara infeksi superfisial yang sering ditularkan melalui hubungan seksual adalah infeksi oleh *Candida spp.* *Candida albicans* merupakan flora normal mulut dan vagina, tetapi dalam kondisi tertentu dengan jumlah berlebihan dapat menekan sistem kekebalan tubuh inang.

Menurut Slavin *et al.*, (2004) *Candida spp.* adalah salah satu penyebab paling signifikan dari infeksi nosokomial, dan kandidiasis memiliki angka kematian lebih dari 25%. Penyakit ini terutama menyerang orang dewasa, dengan frekuensi wanita 2 sampai 3 kali lebih banyak daripada laki-laki terutama menyerang jari-jari tangan sebanyak 70% dalam bentuk parakonial (Bramono *et al.*, 2001).

Meningkatnya prevalensi infeksi *Candida spp.* dihubungkan dengan kelompok penderita gangguan sistem imun seperti pada penderita AIDS. Penelitian yang dilakukan Hanum, (2009) infeksi jamur superfisial yang terdapat pada pengidap HIV/AIDS di Pusyansus RSUP H. Adam Malik Medan sebesar 50,7% dengan rincian 2,7% pasien diantaranya menderita 3 jenis infeksi jamur, 1,4% menderita 2 jenis dan 46,6% menderita 1 jenis jamur superfisial. Secara klinis kandidiasis oral 41,1% dan dermatofitosis sebanyak 16,4% dengan rincian 4,1% tinea korporis, dan 2,7% masing-masing menderita tinea kruris, tinea fasialis, dan onikomikosis. Sedangkan, 1,4% masing-masing menderita tinea pedis, tinea mannis, tinea capitis. Penyebab terbanyak adalah spesies *Candida* 81,1% dan hanya 18,9%

dermatofita. *Candida albicans* merupakan penyebab tersering kandidiasis diikuti *Candida tropicalis* dan *Candida prapsilosis*.

Selain infeksi superfisial dapat disebabkan oleh *Candida albicans*, infeksi jamur superfisial lainnya juga disebabkan oleh *Pityrosporum ovale*. *Pityrosporum ovale* adalah jamur dimorfik dan salah satu anggota dari mikroflora normal kulit manusia. Imunoglobulin yang spesifik untuk fase ragi *Pityrosporum* dapat dideteksi pada kulit individu normal yang tidak memiliki riwayat penyakit kulit, dan beberapa penelitian telah menunjukkan adanya respons humoral pada orang sehat (Brunke, 2006). Namun, *Pityrosporum* juga merupakan patogen fakultatif, terkait dengan berbagai penyakit kulit. Salah satu ciri khas *Pityrosporum* adalah ketergantungan pada lipid eksternal yang terdapat pada kulit yang mengalami hidrolisis oleh aktivitas lipolitik untuk melepaskan asam lemak yang diperlukan untuk pertumbuhan maupun patogenitas untuk jamur tersebut. Pertumbuhan *Pityrosporum* yang berlebihan dapat menyebabkan berbagai penyakit kulit seperti *Ptoriasis Versikolor*, *Malassezia Folliculitis*, *Atopic Dermatitis*, *Psoriasis*, *Ketombe*, dan *Dermatitis Seboroik* (Ashbee, 2002).

Saat ini sudah ditemukan sejumlah obat penyakit kulit yang disebabkan oleh jamur, salah satunya adalah ketokonazol. Ketokonazol merupakan salah satu agen antifungi yang sering digunakan dalam pengobatan kandidiasis. Cara kerja dari ketokonazol meliputi beberapa mekanisme, tetapi yang paling utama adalah dengan menghambat sintesis ergosterol (Bennet, 1996; Katzung, 2004). Karena absorpsinya yang cukup baik, ketokonazol dalam pengobatan kandidiasis digunakan dalam sediaan oral. Selain itu juga digunakan secara topikal. Walaupun efektif, pemakaian ketokonazol tidak dianjurkan kepada penderita gangguan hepar, karena bersifat hepatotoksik. (Rex dan Arian, 2003). Sayangnya, laporan-laporan mengenai resistensi terhadap agen antifungi yang ada terus bermunculan. (Maenza *et al.*, 1997 dan Espinel, 1997). Hal ini memicu adanya kebutuhan untuk mencari agen-agen pengobatan yang baru dengan aktivitas antifungi yang lebih baik dan toksisitas yang lebih rendah. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian-

penelitian untuk menghasilkan obat-obatan atau antibiotik alternatif sebagai solusi terhadap masalah tersebut. Penggunaan obat dari bahan-bahan alami mulai banyak digunakan oleh masyarakat di Indonesia. Selama ini, orang lebih mengenal madu sebagai produk lebah yang paling populer dan berkhasiat dalam mengatasi berbagai penyakit. Namun, jika kita mengambil hikmah dari surat An-Nahl ayat 69, kita akan mengetahui produk lebah yang dapat dijadikan obat tidak terbatas hanya pada madu saja.

Sebagaimana firman Allah SWT dalam Al-Quran surah An-Nahl ayat 69 :

ثُمَّ كَلَىٰ مِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلًّا يَخْرُجُ مِنْ
بُطُونِهَا شَرَابٌ مُّخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ
يَتَفَكَّرُونَ ﴿٦٩﴾

“Kemudian makanlah dari tiap-tiap (macam) buah-buahan dan tempuhlah jalan Tuhanmu yang telah dimudahkan (bagimu). Dari perut lebah itu keluar minuman yang bermacam-macam warnanya, di dalamnya terdapat obat menyembuhkan bagi manusia. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda kebesaran Tuhan bagi orang yang memikirkan.” (QS. An-Nahl : 69)

Salah satu yang dapat dijadikan alternatif untuk pengobatan adalah propolis. Dalam penelitian Burdock (1998) telah mengungkapkan spektrum sangat luas efek dari propolis, termasuk antioksidan, antibakteri, antivirus, anti-inflamasi, anti-oksidan, anti-tumor dan imunomodulator. Penelitian-penelitian lebih spesifik dilakukan Marquez, *et.al.*, (2004) telah mengevaluasi aktivitas immunosupresif CAPE pada T-sel manusia, menemukan bahwa senyawa fenolik ini adalah inhibitor poten dari patogenesis *T-cell* dimediasi reseptor sel T aktivasi. Selain itu, mereka menemukan bahwa CAPE khusus menghambat kedua interleukin (*IL*)-2 gen transkripsi dan *IL*-2 sintesis dalam menstimulasi *sel-T*.

Hasil penelitian Hendi, *et al.*, (2011) menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* mempunyai sensitivitas lebih tinggi terhadap propolis dari Gram negatif lainnya yaitu bakteri Gram positif sementara standar galur *E. Coli* sangat sensitif

terhadap ekstrak propolis daripada yang lain bakteri Gram negatif. Pengaruh propolis meningkat ketika konsentrasi meningkat menjadi 20% dan 30%.

Konsentrasi ekstrak propolis yang mampu menghambat ragi pada jamur adalah 5×10^{-2} mg/ml ekstrak dan 2×10^{-2} mg / ml ekstrak merangsang kematian selular jamur. *Trichosporon sp.* adalah spesies yang paling sensitif, yang menunjukkan MIC₅₀ dan MIC₉₀ dari $1,25 \times 10^{-2}$ mg / ml ekstrak propolis (Oliveira *et al.*, 2006).

Mengingat insidensi penyakit kulit yang disebabkan jamur *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale* yang cukup tinggi di Indonesia maka di dalam penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang aktivitas Antijamur propolis terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*. Dari hal tersebut penulis tertarik untuk meneliti Daya Anti Fungi Propolis Secara In Vitro Terhadap *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*

B. Perumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antifungi dari propolis terhadap jamur *Pityrosporum ovale* dan *Candida albicans* ?
2. Berapa konsentrasi propolis yang mampu menghambat jamur *Pityrosporum ovale* dan *Candida albicans* ?

C. Tujuan Penelitian

1. Dapat mengetahui aktivitas antifungi dari Propolis terhadap jamur *Pityrosporum ovale* dan *Candida albicans*
2. Dapat menentukan konsentrasi Propolis yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Pityrosporum ovale* dan *Candida albicans*

D. Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Hasil penelitian diharapkan mampu menambah wawasan ilmu tentang manfaat propolis yang dapat dilihat dari percobaan penggunaan propolis dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*.

2. Bagi Pembaca

Hasil penelitian ini diharapkan mampu menambah pengetahuan pembaca tentang kegunaan propolis yang salah satunya sebagai antifungi untuk pengobatan penyakit kulit khususnya penyakit kulit yang disebabkan oleh *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*.

3. Bagi Masyarakat

Sebagai alternatif pilihan pengganti obat-obatan kimia jika hasil penelitian ini dapat menunjukkan efek daya hambat terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*.

BAB II

LANDASAN TEORI

A. *Candida albicans*

1. Taksonomi dari *Candida albicans*

Dalam Tortora (2002) *Candida albicans* termasuk dalam:

Kingdom: *Fungi*

Phylum: *Ascomycota*

Subphylum: *Saccharomycota*

Class: *Saccharomyces*

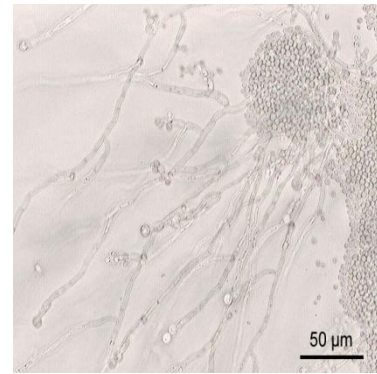
Ordo: *Saccharomycetales*

Family: *Saccharomycetaceae*

Genus : *Candida*

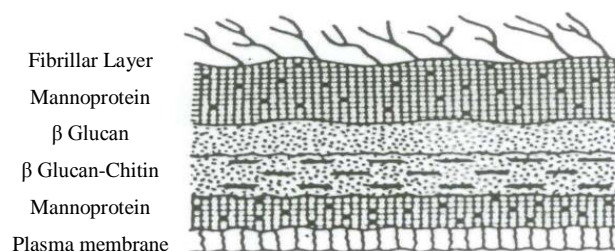
Nama Binomial : *Candida Albicans* (C.P. Robin) Berkhout 1923

Sinonim : *Candida stellatoidea*, *Oidium albicans*



2. Morfologi dan Identifikasi *Candida Albicans*

Segal dan Bavin (1994) memperlihatkan bahwa dinding sel *Candida albicans* terdiri dari lima lapisan yang berbeda.



Gambar 1. Skema dinding sel *C. albicans* (Dikutip dari Pathogenic Yeasts and Yeast Infections, Library of Congress Cataloging in Publication Data, 1994, hal. 12)

Candida albicans merupakan jamur dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas

yang akan berkembang menjadi blastospora dan menghasilkan kecambah yang akan membentuk hifa semu. Perbedaan bentuk ini tergantung pada faktor eksternal yang mempengaruhinya. Sel ragi (blastospora) berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong dengan ukuran $2-5\ \mu \times 3-6\ \mu$ hingga $2-5,5\ \mu \times 5-28\ \mu$ (Tjampakasari, 2006). Menurut Vidotto, *et al.*, (2003) *Candida albicans* dan patogenitasnya dipengaruhi oleh genetik, lingkungan dan fenotipik dimana faktor-faktor seperti PH, suhu, kondisi anaerob dan faktor gizi dalam jaringan pencernaan berperan dalam meningkatkan penetrasi *Candida albicans* melalui sel mukosa.

Candida albicans memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat atau lonjong di sekitar septum. Dinding sel *Candida albicans* berfungsi sebagai pelindung dan juga sebagai target dari beberapa antimikotik.

Dinding sel berperan pula dalam proses penempelan dan kolonisasi serta bersifat antigenik. Membran sel *Candida albicans* seperti sel eukariotik lainnya terdiri dari lapisan fosfolipid ganda. Membran protein ini memiliki aktifitas enzim seperti manan sintase, khitin sintase, glukon sintase, ATPase dan protein yang mentransport fosfat. Terdapatnya membran sterol pada dinding sel memegang peranan penting sebagai target antimikotik dan kemungkinan merupakan tempat bekerjanya enzim-enzim yang berperan dalam sintesis dinding sel (Toenjes, *et al.*, 2009).

B. Candidiasis

1. Prevalensi Dan Epidemiologi

Tempat paling umum terdapat jamur *Candida albicans* adalah mulut, saluran anorektal, saluran kelamin dan kuku. *Candida albicans* adalah spesies penyebab pada lebih 80% kasus infeksi kandida pada genetalia. Cara penularan terutama adalah kontak langsung manusia ke manusia, khususnya tinggi pada kelompok aktif seksual. Sumber infeksi

antara lain saluran pencernaan, transmisi seksual, dan kekambuhan (Price,*et al.*, 2006).

Menurut Herman (2001) sekitar 20% pria pasangan wanita dengan kandidiasis vagina kambuhan menunjukkan kolonisasi kandida pada penis, khususnya pada pria yang tidak dikhitan pada daerah sulcus corona yang biasanya asimtomatik. Prevalensinya 4 kali lebih banyak pada pria pasangan wanita yang terinfeksi daripada pria pasangan wanita bebas infeksi.

Sobel (1999) melaporkan bahwa pada 20 -55% wanita sehat usia reproduksi, dijumpai candida pada traktus genitalis bersifat asimtomatik. Pada 29,8% wanita dengan vulvovaginitis simtomatik dapat diisolasi jamur candida. Rata-rata 70 -75 % wanita dewasa pernah satu kali ikut menderita kandidiasis vagina selama hidupnya dan 40-50% mengalami dua kali atau lebih.

Menurut Bratawidjaja (2010) sebenarnya wanita memiliki mekanisme pertahanan alami vagina antara lain sistem humoral, fagositosis, imunitas yang dimediasi sel, dan yang penting flora vagina yaitu melalui mekanisme kompetisi nutrisi dan bakteriosin yang menghambat pertumbuhan dan germinasi ragi.

2. Etiologi Candidiasis

Infeksi candida paling sering disebabkan oleh *Candida albicans*, jamur yang merupakan bagian dari flora normal vagina wanita usia reproduksi, tetapi menyebabkan > 90% kasus vaginitis simtomatik. Namun, infeksi ini juga bisa disebabkan oleh spesies lain, seperti *Candida tropicalis* dan *Candida glabrata*. Dua jenis jamur ini lebih tahan terhadap pengobatan. Hubungan antara kolonisasi vagina (pertumbuhan *Candida albicans* pada vagina) dan gejala vaginitis masih belum diteliti. Faktor-faktor resiko terjadinya kolonisasi ragi yang berlebihan adalah mempunyai riwayat penyakit HIV/AIDS, diabetes, penggunaan narkoba secara intravena, dan penggunaan antibiotik yang terlalu sering (Mashburn, 2006).

3. Patogenesis Candidiasis

Rippon (1998) mengemukakan bahwa bentuk blastospora diperlukan untuk memulai suatu lesi pada jaringan. Sesudah terjadi lesi, dibentuk hifa yang melakukan invasi. Menempelnya mikroorganisme dalam jaringan sel pejamu menjadi syarat mutlak untuk berkembangnya infeksi. Secara umum diketahui bahwa interaksi antar mikroorganisme dan sel pejamu menjadi syarat mutlak untuk berkembangnya infeksi. Secara umum diketahui bahwa interaksi antara mikroorganisme dan sel pejamu diperantarai oleh komponen spesifik dari dinding sel mikroorganisme, adhesin dan reseptor.

Mannan dan manoprotein merupakan molekul-molekul *Candida albicans* yang mempunyai aktivitas adhesif. Khitin, komponen kecil yang terdapat pada dinding sel *Candida albicans* juga berperan dalam aktifitas adhesive. Setelah terjadi penempelan, *Candida albicans* berpenetrasi ke dalam sel epitel mukosa. Dalam hal ini enzim yang berperan adalah aminopeptidase dan asam fosfatase. Apa yang terjadi setelah proses penetrasi tergantung dari keadaan imun pejamu (Richardson dan Shankland, 1991).

C. *Pityrosporum ovale*

1. Taksonomi dari *Pityrosporum ovale*

Kingdom: *Fungi*

Division: *Basidiomycota*

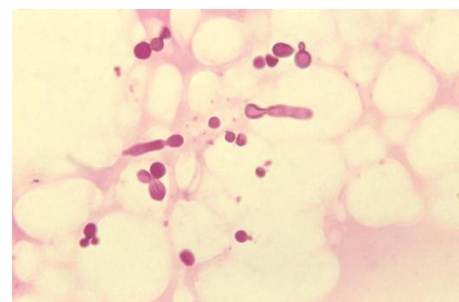
Subdivision: *Ustilaginomycotina*

Class: *Exobasidiomycetes*

Order: *Malasseziales*

Family: *Malasseziaceae*

Genus: *Pityrosporum*



Nama binominal : *Pityrosporum ovale* Castell. & Chalm. 1913

Sinonim: *Malassezia ovalis* Acton & Panja 1927

2. Morfologi dan identifikasi *Pityrosporum ovale*

Spesies *Pityrosporum* dapat menghasilkan 2 macam bentuk morfologi yaitu ragi dan miselium, tetapi ragi yang paling sering dikaitkan dengan flora normal kulit. Bentuk ragi juga dominan dalam kultur, meskipun hifa dapat dilihat dengan beberapa spesies. Beberapa spesies juga dapat menghasilkan miselium secara in vitro dengan menggunakan berbagai media, meskipun tidak semua isolat dari *Pityrosporum* mampu untuk menjalani transformasi ini. Spesies *Pityrosporum* mengalami reproduksi aseksual secara monopolar. Sel induk dan sel anakan dipisahkan oleh septum, dan sel anak memisahkan dengan cara fusi, sehingga meninggalkan bekas collarette dimana sel anakan berturut-turut akan muncul (Kindo, 2004).

Dinding sel dari genus *Pityrosporum* ini diferensiasinya buruk. Karena sangat tebal dibandingkan dengan ragi lainnya (sekitar 0,12M) dan merupakan 26-37% dari volume sel. Komponen utama dari dinding sel adalah gula (70%), protein (10%), dan lipid (15 sampai 20%), dengan sejumlah kecil nitrogen dan sulfur. Beberapa penelitian melaporkan bahwa dinding sel *Pityrosporum* terdiri dari dua lapisan dengan lekukan pada lapisan bagian dalam, penelitian ini juga menunjukkan adanya lapisan luar lamelar sekitar dinding sel. Lapisan lamelar merupakan sejenis pseudomembran. Lapisan lamelar berperan dalam adhesi pada kulit manusia dan perlekatan pada kateter. Sitoplasma membran melekat pada permukaan dalam dinding sel. Jumlah dan bentuk mitokondria dalam sel masing-masing dapat bervariasi, berbeda antara bentuk sel bulat dan oval. Nukleus memiliki membran yang jelas dikelilingi oleh nucleoplasma homogen granular. Vakuola berisi lipid dan bervariasi dalam ukuran yang sesuai dengan umur sel (Ashbee, 2002).

D. Dermatitis Seboroik

1. Prevalensi Dan Epidemiologi

Dermatitis seboroik menyerang 2% - 5% populasi. Dermatitis seboroik dapat menyerang bayi pada tiga bulan pertama kehidupan dan pada dewasa pada umur 30 hingga 60 tahun. Insiden memuncak pada umur 18–40 tahun. Dermatitis Seboroik lebih sering terjadi pada pria daripada wanita. Berdasarkan pada suatu survey pada 1.116 anak–anak, dari perbandingan usia dan jenis kelamin, didapatkan prevalensi dermatitis seboroik menyerang 10% anak laki–laki dan 9,5% pada anak perempuan. Prevalensi semakin berkurang pada setahun berikutnya dan sedikit menurun apabila umur lebih dari 4 tahun. Kebanyakan pasien (72%) terserang minimal atau dermatitis seboroik ringan. Pada penderita AIDS (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*), dapat terlihat pada hampir 35% pasien Terdapat peningkatan insiden pada penyakit Parkinson, paralisis fasial, pityriasis versicolor, cedera spinal, depresi dan yang menerima terapi psoralen ditambah ultraviolet A (PUVA). Juga beberapa obat–obatan neuroleptik mungkin merupakan faktor, kejadian ini sering terjadi tetapi masih belum dibuktikan. Kondisi kronik lebih sering terjadi dan sering lebih parah pada musim dingin yang lembab dibandingkan pada musim panas (Abramovits, 2009).

2. Etiologi Dermatitis Seboroik

Penyebab dermatitis seboroik pasti masih belum diketahui namun penyebab umum adalah berasal sejumlah faktor seperti berikut:

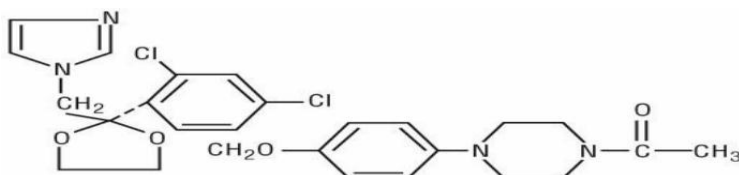
- a. *Pityrosporum ovale* dianggap patogen untuk dermatitis seboroik di kulit kepala. Keberadaannya diyakini menyebabkan radang kulit kepala yang bersifat menetap dan menyebabkan iritasi lebih lanjut. Pertumbuhan yang didukung oleh asam lemak jenuh dan trigliserida.

- b. Dermatitis seboroik adalah suatu kondisi yang cukup sering lahir dari faktor stres terkait serta kondisi kesehatan yang buruk disebabkan oleh penyakit dan kelelahan. Pria dan wanita menderita masalah ketombe dan erythema terutama akibat stres psikologis dan kurang tidur yang dalam tahap berikutnya menyebabkan dermatitis seboroik.
- c. Vitamin A dalam jumlah yang berlebihan menyebabkan alimention hipo pada anak dan orang dewasa, sehingga mengarah ke dermatitis seboroik. Dengan cara yang lain kekurangan Vitamin B6 (juga dikenal sebagai Biotin) serta Vitamin B2 (Riboflavin juga disebut) menyebabkan munculnya serpihan bersisik di atas kulit kemerahan dan daerah.
- d. Mereka yang menderita gangguan saraf seperti penyakit Parkinson dan masalah immunodeficiency rentan terhadap gangguan kulit ini. Selain itu, pasien jantung atau orang positif HIV juga dapat menderita dermatitis seboroik.
- e. Kulit kering selama musim dingin dapat memperburuk terjadinya penyakit ini. Ini adalah alasan mengapa orang-orang yang tinggal di daerah beriklim dingin menderita sejumlah besar ketombe dan masalah seborrhea terkait. (Johnson, 2000).

3. Patogenesis Dermatitis Seboroik

Gambaran histologi dari dermatitis seboroik ditemukan adanya limfosit dalam lesi yang secara spesifik diidentifikasi sebagai Th terutama sel CD4+. Selain terdapat limfosit, juga ditemukan makrofag, monosit, dan sel-sel Langerhans dengan beberapa granulosit. Dalam lesi, ekspresi NK1 dan CD16 meningkat, menunjukkan reaksi iritasi nonimmunogenic (Ashbee, 2002).

E. Ketokonazol Sebagai Obat antijamur



(Katzung, 2004)

1. Kandungan Dan Farmakokinetik Ketokonazol

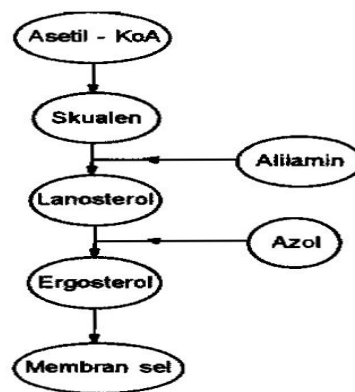
Anti jamur sintetik azol menghambat jamur dengan menghambat biosintesis lipid jamur, terutama ergosterol pada membran sel. Efek ini diakibatkan oleh penghambatan pada 14 α -dementilasi yang membutuhkan P450 dari lanosterol jamur. Interaksi azol dengan demetilase C14A dalam sel jamur juga menyokong efek toksis utama azol pada sel mammalia, misalnya secara klinis ketokonazol menyebabkan kelainan endokrin pada manusia karena inhibisi enzim sitokrom P-450 yang dibutuhkan untuk sintesis hormon steroid adrenal dan gonad. Akan tetapi efek tidak diharapkan ini malah dimanfaatkan untuk mengurangi produksi hormon steroid pada sindroma Cushing atau kanker prostat. Suatu perbedaan penting antara imidazol dan triazol adalah afinitas triazol yang lebih besar terhadap enzim sitokrom P-450 dan jamur dibandingkan dengan manusia. Sehingga efek penghambatannya hanya terlihat pada dosis tinggi.

(Setiabudi, 2007)

Ketokonazol suatu imidazol, merupakan obat pertama dari kelompok ini yang diberikan peroral dan efektif untuk beberapa mikosis sistemik. Dosis tunggal harian 200-400 mg diberikan bersama makanan. Obat ini diabsorpsi dengan baik dan didistribusikan secara luas, tetapi konsentrasi di susunan saraf pusat rendah. Penyerapan pada saluran cerna akan berkurang pada pasien dengan Ph lambung yang tinggi, pada

pemberian antasida. Pengaruh makanan tidak begitu nyata terhadap penyerapan ketokonazol. Dosis harian menekan infeksi *Candida* mulut dan vagina dalam 1-2 minggu dan dermatofitosis dalam 3-8 minggu. Kandidiasis mukokutan pada anak-anak kurang imun memberi respon dalam 4-10 bulan (Katzung, 2004).

Skema: cara kerja obat antijamur terhadap sintesis membran sel



(Hakim, 1996)

2. Indikasi

Ketokonazol terutama efektif untuk histoplasmosis paru, tulang, sendi dan jaringan lemak. Ketokonazol tidak dianjurkan untuk meningitis kriptokokus karena penetrasinya kurang baik tapi obat ini efektif untuk kriptokokus nonmeningeal dan terbukti bermanfaat pula pada parakoksidiomikosis, beberapa bentuk koksidioidomikosis, dermatomikosis, kandidiasis (mukokutan, vagina dan oral). Mycoses sistemik, kandidiasis mukokutaneous kronik yang resisten, mycoses gastrointestinal yang resisten, kandidiasis vaginal kronik yang resisten, infeksi dermatofit pada kulit dan kuku tangan (tidak pada kuku kaki); profilaksis mikosa pada pasien immunosupresan (Setiabudi, 2007).

3. Dosis

a. Pengobatan kuratif:

Dewasa:

- 1) infeksi kulit, gastrointestinal dan sistemik: 1 tablet ketokonazol (200 mg) sekali sehari pada waktu makan. Apabila tidak ada reaksi dengan dosis ini, dosis ditingkatkan menjadi 2 tablet (400 mg) sekali sehari pada waktu makan..
- 2) Kandidosis vagina: 2 tablet ketokonazol (400 mg) sekali sehari pada waktu makan.

Anak-anak;

Tidak boleh digunakan untuk umur < 2 tahun.

- 1) Anak dengan berat badan kurang dari 15 kg: 20 mg ketokonazol 3 kali sehari pada waktu makan.
- 2) Anak dengan berat badan 15-30 kg: 100 mg ketokonazol sekali sehari pada waktu makan.
- 3) Anak dengan berat badan lebih dari 30 kg sama dengan dewasa.

Pada umumnya dosis diteruskan tanpa interupsi sampai minimal 1 minggu setelah semua simptom hilang dan sampai kultur pada media menjadi negatif.

b. Pengobatan profilaksis:

1 tablet ketokonazol (200 mg) sekali sehari pada waktu makan.

Lama pengobatan:

- 1) Kandidosis vagina 5 hari.
- 2) Mikosis pada kulit yang disebabkan oleh dermatofit: kurang lebih 4 minggu.
- 3) Pitiriasis versikolor: 10 hari.
- 4) Mikosis mulut dan kulit yang disebabkan oleh kandida: 2-3 minggu.

- 5) Infeksi rambut 1-2 bulan.
- 6) Infeksi kuku: 3-6 bulan, bila belum ada perbaikan dapat dilanjutkan hingga 12 bulan.

Dipengaruhi juga dengan kecepatan pertumbuhan kuku, sampai kuku yang terinfeksi digantikan oleh kuku yang normal.

- Kandidosis sistemik: 1-2 bulan.
- Parakoksidiodomikosis, histoplasmosis, koksidiodomikosis: lama pengobatan optimum 2-6 bulan.

(Dexamedica,2011).

4. Efek Samping

Efek samping toksik ketokonazol lebih ringan daripada amfoterisin B. Gejala gastrointestinal yang paling sering ditemui adalah Mual dan muntah, keadaan ini akan lebih ringan bila obat ditelan bersama makanan. tetapi hingga dosis 400 mg sehari jarang sampai mengharuskan penghentian terapi. Meskipun sebagian besar penderita dengan induksi kenaikan kadar aminotransferase plasma bersifat asimptomatik, ketokonazol dan lebih jarang lagi triazol mungkin menimbulkan hepatitis yang klinis penting atau fatal. Studi fungsi hati, khususnya penentuan aminotransferase plasma, harus dilakukan sebelum pengobatan dan secara berkala sesudahnya dan karena umumnya kasus hepatitis akibat azol terjadi dalam beberapa bulan tahap awal terapi, waktu ini pemantauan sangat penting.

Perbedaan utama toksisitas potensial antara ketokonazol dan triazol yang lebih baru adalah efeknya terhadap steroidogenesis. Pada dosis > 400 mg sehari ketokonazol secara reversibel menghambat sintesis testosteron (dan karena itu estradiol) dan kortisol yang mengakibatkan berbagai gangguan endokrin seperti ginekomastia, oligospermia, berkurangnya libido, impotensi, ketidakteraturan menstruasi dan kadang insuffisiensi adrenal (Hakim, 1996).

F. Lebah (*Apis*)

1. Lebah *Apis Mellifera*



Kingdom: *Animal*

Filum: *Arthropoda*

Kelas: *Insecta*

Order: *Hymenoptera*

Family: *Apidae*

Genus: *Apis*

Spesies: *Apis Mellifera Linnaeus 1758*

Lebah madu, *Apis mellifera*, adalah salah satu dari beberapa jenis lebah yang menghasilkan madu. Lebah madu hidup dalam koloni, atau gatal-gatal, dari 50.000 lebah rata-rata. Sebuah koloni lebah madu terdiri dari ratu, lebah jantan, dan pekerja. Semua memainkan peran dalam kelangsungan hidup masyarakat. Keterangan: Sebanyak 29 subspecies dari *Apis mellifera* ada. Lebah madu Italia, *Apis mellifera ligustica*, yang paling sering disimpan oleh peternak lebah di belahan bumi barat. Lebah madu Italia digambarkan sebagai cahaya atau warna emas di. Perut mereka bergaris-garis kuning dan coklat. Kepala berbulu membuat mata majemuk besar mereka muncul dikelilingi dengan rambut. Lebah madu memakan nektar dan serbuk sari dari bunga. Lebah pekerja memberi makan larva royal jelly yang pertama, dan kemudian menawarkan serbuk sari. Meskipun asli ke Eropa dan Afrika, *Apis mellifera* sekarang didistribusikan di seluruh dunia, sebagian besar karena praktek perlebahan (Siregar, *et al.*, 2011)

2. Lebah *Trigona* spp.

Klasifikasi :



Kingdom: *Animalia*

Phylum: *Arthropoda*

Class: *Insecta*

Order: *Hymenoptera*

Superfamily: *Apoidea*

Family : *Apidae*

Subfamily: *Apinae*

Tribes : *Meliponini*

Genus: *Trigona*

Species: *Trigona* sp.

Binomial name: *Trigona* sp. Jurine, 1801

Lebah tidak bersengat dapat ditemukan pada wilayah dengan iklim tropis hingga subtropis diseluruh dunia. Seperti di Australia, Afrika, Asia, dan Amerika tropis (Mello, 2002). Di Afrika juga tersebar luas termasuk di Madagaskar (Koch, 2011). Karena berada pada daerah tropis, lebah tidak bersengat selalu aktif seluruh waktu dalam setahun. Tidak seperti lebah lainnya lebah ini tidak menyengat apabila sarangnya di ganggu namun akan menggigit untuk pertahanan. Pada beberapa jenis lebah bersengat dapat menghasilkan sekret mandibular yang akan sangat menyakitkan bila digigit (Koch *et.al*, 2011). Karena tidak mempunyai sengat, lebah tak bersengat mempunyai koloni yang sangat besar terutama jumlah pertahanannya (Mello, 2002). Lebah tidak bersengat biasanya membuat sarang didalam batang pohon, percabangan pohon, lubang dibawah tanah, retakan batu, retakan dinding, tong sampah tua, dan drum penyimpanan. Lebah menyimpan polen dan madu didalam pot berbentuk seperti telur yang terbuat dari *beewax* yang merupakan campuran resin tanaman. Berbeda dengan lebah lainnya larva meliponini tidak diberi makan langsung. Tidak seperti lebah madu lainnya dimana betina menjadi pekerja dan ratu sangat bergantung pada makanan yang diberikan,

sistem pada meliponini lebih beragam dan berdasar pada jumlah polen yang dikonsumsi (Koch *et.al*, 2011).



G. Propolis

Propolis berasal dari bahasa Yunani yaitu *pro* yang berarti di depan/sebelum dan *polis* yang berarti kota. Istilah ini menggambarkan propolis sebagai pelindung

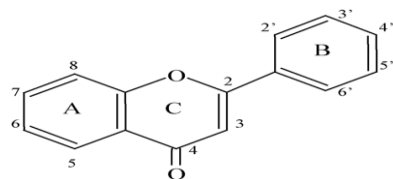
sarang lebah dari hal-hal di luar sarang agar supaya sarang dan isinya yang mengandung koloni larva lebah madu terlindungi dari bahaya dan senantiasa bersih steril dengan tujuan agar telur dapat menetas dan berkembang dengan sempurna (Hoesada,*et al.*, 2000). Propolis mempunyai nama lain lem lebah (bee glue), hal ini karena bentuknya seperti lem yang digunakan oleh lebah merekat dan memperkuat sarang dan merekat pintu-pintu lubang angin yang tidak diperlukan pada rumah lebah. Propolis merupakan bagian dari sebuah mekanisme pertahanan hidup lebah madu. Hal ini diperlukan oleh lebah karena lebah memerlukan tinggal di dalam sarang dengan suhu yang stabil lebih kurang 32-33⁰C. Fungsi propolis yang sangat vital terhadap koloni lebah adalah merupakan disinfektan alamiah untuk mencegah timbulnya berbagai penyakit (Dimov,1992).

1. Kandungan Kimia Propolis

Analisis Fitokimia ekstrak dari 40 senyawa aktif dalam berbagai macam propolis berdasarkan wilayahnya menunjukkan adanya constituents umum seperti fenol 79,5%, epigallotannins atau tanin terkondensasi 77%, glikosida 49%, saponin 38%, flavonoid 28% dan alkaloid 25%. (Popova,*et.al.*, 2007).

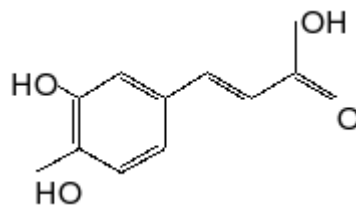
Dari penelitian Santos,*et al.* (2005) Komponen utama dari propolis adalah flavonoid dan asam fenolat, termasuk *caffeic acid phenylesthyvester* (CAPE) yang kandungannya mencapai 50% dari seluruh komposisi. Untuk kandungan lebih lengkap dapat dilihat pada Lampiran 1.

Ini adalah beberapa komponen dari propolis yang mempunyai efek antijamur.



Gambar. 1. Struktur kerangka flavones
(kelas flavonoid), dengan cincin bernama
dan posisi nomor
(Cushnie,2005)

Flavonoid terdapat hampir di semua spesies bunga. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Golongan flavonoid mencakup banyak pigmen yang paling umum dan terdapat pada seluruh dunia tumbuhan. Jenis flavonoid yang terpenting dalam propolis adalah pinocembrin dan galangin. Kandungan kimia flavonoid dalam propolis sedikit berbeda dengan flavonoid dari bunga karena adanya suatu proses yang dilakukan oleh lebah. Kandungan flavonoid dalam propolis bervariasi sekitar 10-20%. Kandungan tersebut merupakan yang terbanyak dibandingkan kandungan flavonoid dalam produk lebah lain (Marcucci, 1994). Galangin adalah flavonol yang umum ditemukan dalam propolis. Galangin menghambat pertumbuhan *Aspergillus tamarii*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*. Selain itu, sejenis flavanone terpenilasi yang mempunyai efek antifungal didapatkan dari *Eysenhardtia* semak texana telah diidentifikasi sebagai 5,7,4-trihidroksi-8-metil-6-(3-metil-[2-butenil])-(2S)flavanone memiliki aktivitas terhadap patogen oportunistik *Candida albicans*. Flavonoid 7-hidroksi-3,4(methylenedioxy)flavan, terisolasi dari kulit buah *Terminalia bellerica*, juga telah terbukti memiliki aktivitas terhadap *Candida albicans* (Cushnie,2005). Pada penelitian yang dilakukan Sohn, *et al.*, (2010) sejenis flavonoid yaitu Papyriflavonol A mampu mengganggu integritas membran sel dan melisiskan membran sel *Candida albicans*.



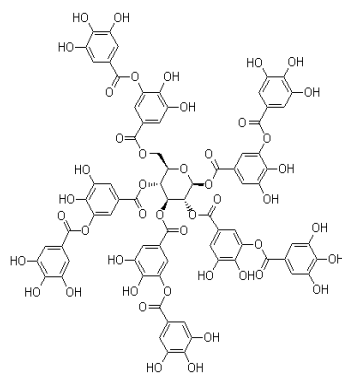
Gambar. 2. Struktur kerangka asam fenolat

Zaeemzadeh,*et al.*, 2011

Asam Caffeic Phenethyl Ester (CAPE) adalah salah satu senyawa terbesar yang ada dalam propolis dan merupakan jenis asam fenolat. Sebagai komponen aktif propolis, CAPE memiliki kegiatan biologis dan farmakologis termasuk anti-inflamasi,

antivirus, antibakteri dan antitumor. Penelitian telah menunjukkan bahwa CAPE memiliki efek chemopreventive pada beberapa sel tumor manusia, termasuk sel leukemia, sel CRC dan sebagainya. CAPE dapat menangkap proliferasi sel dan apoptosis sel melantik. Tetapi mekanisme antitumor tidak jelas. Beberapa studi telah menemukan bahwa efek antitumor dari CAPE dikaitkan dengan β -catenin menyimpang jalur sinyal pada CRC (Zaeemzadeh,*et al.*, 2011)

CAPE juga merupakan agen antijamur yang efektif dalam model murine dari kandidiasis sistemik dan memiliki aktivitas in vitro terhadap beberapa spesies jamur. Penelitian yang dilakukan Toenjes,*et al.*, (2009) Asam caffeic merupakan inhibitor yang sangat ampuh menghambat 12-lipoxygenase dimana lipoxygenase dibutuhkan *Candida albicans* untuk jalur enzimatik menginvasi sel endotelial manusia.



Gambar. 2. Struktur kerangka tannin (Chemnet).

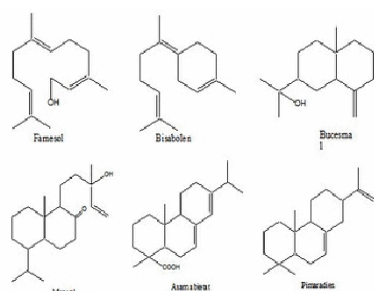
Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein.

Berdasarkan strukturnya, tanin dibedakan menjadi dua kelas yaitu tanin terkondensasi (*condensed tannins*) dan tanin-terhidrolisiskan (*hydrolysable tannins*). Berdasarkan

strukturnya, tanin ini dibedakan menjadi dua kelas yaitu, gallotanin dan ellagitannin. Perbedaan struktur keduanya adalah adanya ester asam galat pada

gallotanin dan ester asam heksahidroksidifenat (HHDP) pada ellagitanin. Kedua ester asam tersebut berikatan dengan glukosa. Ellagitanin yang dihidrolisis akan menghasilkan asam elagat (Harbone, 1996).

Pengujian aktifitas antijamur terhadap *Candida albicans*, *C. glabrata*, *Candidata krusei*, dan *Cryptococcus neofarmans*, menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tanin terhidrolisiskan dan flavonoid memiliki variasi aktifitas yang berbeda-beda tergantung jenis senyawa dan jenis mikroba sasaran. Ellagitanin dan corilagin memiliki aktifitas yang sama dengan amfotericin B dan ketoconazole terhadap *Candida glabrata* (Latte, 2000).



Gambar. 2. Struktur kerangka Terpenoid (Chemnet)

Terpenoid adalah sebuah kelas senyawa turunan dari prekursor *isopentenil difosfat universal* (IPP) dan allylic isomer nya *dimethylallyldiphosphate* (DMAPP), juga disebut unit isoprena. Meskipun

beberapa terpenoid dihasilkan relatif jumlah besar dari sumber alam (misalnya, minyak

atsiri, resin dan malam), sering kali bernilai tinggi produk terpenoid ditemukan dalam kelimpahan yang rendah di alam, dengan terpenoid sekunder biasanya kurang dari 2-3% dari total berat kering (Harborne, 1996). Aktivitas antijamur terpenoid dilaporkan Zore,*et al.*,(2011) Pengujian terpenoid terhadap morfologi sel *Candida albicans* pada fase yang berbeda dari siklus sel yaitu induksi linalool dan LA di G1, citral dan sitronelal pada fase S dan benzil benzoat pada fase G2-M sehingga menyebabkan apoptosis pada sel *Candida albicans*. Linalool, citral, dan benzil benzoat sitronelal menyebabkan penghambatan lebih dari 50% kuman yang dibiakkan didalam tabung percobaan.

2. Khasiat Propolis Untuk Pengobatan

a. Aktivitas antibakteri dan antijamur

Hasil penelitian Hendi, *et al.*,(2011) menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* mempunyai sensitivitas lebih tinggi terhadap propolis dari Gram negatif lainnya yaitu bakteri Gram positif

sementara standar galur *E. Coli* sangat sensitif terhadap ekstrak propolis daripada yang lain bakteri Gram negatif. Pengaruh propolis meningkat ketika konsentrasi meningkat menjadi 20% dan 30%.

Konsentrasi ekstrak propolis yang mampu menghambat semua ragi pada jamur adalah 5×10^{-2} mg/ml dan 2×10^{-2} mg / ml ekstrak merangsang kematian selular jamur. *Trichosporon sp.* adalah spesies yang paling sensitif, yang menunjukkan MIC50 dan MIC90 dari $1,25 \times 10^{-2}$ mg / ml ekstrak propolis (Oliveira, *et al.*, 2006). Pada penelitian yang dilakukan Mello, *et al.*, (2006) EEP (Ekstrak Etanol Propolis) efektif mengontrol pertumbuhan *in vitro* *Candida spp.* EEP dapat dipertimbangkan pengobatan alternatif untuk infeksi jamur pada rongga mulut, seperti kandidosis oral atau stomatitis karena penggunaan gigi tiruan. konsentrasi propolis 3-4 g / L mengurangi persentase germinasi conidial dari *Candida albicans* sebanyak 56-65%. Pada penelitian yang dilakukan Marcucci (1994) Propolis menunjukkan aktivitas antijamur penting terhadap *Trichophyton* dan *Mycrosporium* di dalam propilen glikol, yang berinteraksi secara sinergis pada konsentrasi 5%.

b. Aktivitas antiinflamasi

Asam caffeic phenethyl ester (CAPE), yang berasal dari propolis sarang lebah madu, telah terbukti mempunyai sifat anti-inflamasi. Karena T-sel memainkan peran dalam timbulnya inflamasi. Marquez, *et al.*, (2004) telah mengevaluasi aktivitas immunosupresif CAPE pada T-sel manusia, menemukan bahwa senyawa fenolik ini adalah inhibitor poten dari patogenesis *T-cell* dimediasi reseptor sel T aktivasi. Selain itu, mereka menemukan bahwa CAPE khusus menghambat kedua interleukin (*IL*)-2 gen transkripsi dan *IL*-2 sintesis dalam menstimulasi *sel-T*.

c. Aktivitas antidiabetes

Percobaan yang dilakukan pada tikus yang diabetes, ekstrak propolis menyebabkan penurunan kadar glukosa darah

(GDP), *fruktosamin* (FRU), *malonaldehid* (MDA), *oksida nitrat* (NO), *sintetase oksida nitrat* (NOS), *total kolesterol* (TC), *trigliserida* (TG), *low-density lipoprotein kolesterol* (LDLC), *densitas sangat rendah lipoprotein kolesterol* (VLDL-C) dalam serum tikus yang dipuasakan, dan untuk tingkat peningkatan serum *highdensity lipoprotein kolesterol* (HDL-C) dan *superoksida dismutase* (SOD). Hal ini menunjukkan bahwa propolis dapat mengontrol glukosa darah dan memodulasi metabolisme glukosa dan lipid darah, yang menyebabkan output, penurunan peroksidasi lipid dan menghilangkan zat radikal bebas pada tikus dengan Diabetes mellitus (Fuliang, *et al.*, 2005).

d. Berguna dalam melindungi otak dari stroke

Jaringan sistem saraf pusat sangat rentan kerusakan oksidatif, menunjukkan oksidasi yang memainkan peranan penting dalam patogenesis *multiple sclerosis* (MS) dan *autoimun eksperimental encephalomyelitis* (EAE). *Ester asam caffeic phenethyl* (CAPE) diperiksa untuk efek pada jaringan oksidatif kerusakan di EAE pada tikus. Pengobatan dengan CAPE secara signifikan menghambat spesies oksigen reaktif (ROS) produksi diinduksi oleh EAE, dan gejala klinis diperbaiki pada tikus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa CAPE bisa menginduksi efek anti-inflamasi untuk menghambat produksi ROS pada tingkat transkripsi melalui penekanan aktivasi faktor kappa B, dan dengan langsung menghambat aktivitas katalitik sintase nitrat oksida diinduksi (Ilhan, *et al.*, 2004).

H. Ekstraks dan Ekstraksi

1. Definisi

Dalam buku farmakope indonesia Edisi 4 disebutkan bahwa Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai (Depkes, 2000).

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut. Bahan mentah obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan atau hewan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan atau dikeringkan. Ekstrak mengandung berbagai macam unsur, tergantung pada obat yang digunakan dan kondisi dari ekstraksi (Ansel, 1989).

2. Cairan Penyari

Pada proses ekstraksi digunakan 2 penyari yaitu air dan etanol karena banyak bahan tumbuhan larut dalam air atau alkohol, maka air atau etanol menjadi acuan cairan pengekstraksi (Voight, 1995).

Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagai cairan penyari adalah air, etanol, etanol-air atau eter (Depkes, 1986).

Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria berikut :

- 1) Selektivitas
- 2) Kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut
- 3) Ekonomis
- 4) Ramah lingkungan
- 5) Keamanan (Depkes, 2000).

Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena: lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Untuk meningkatkan penyarian biasanya menggunakan campuran etanol dan air. Perbandingan jumlah etanol dan air tergantung pada bahan yang disari. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antraknon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil. Lemak, malam, tanin dan saponin hanya sedikit larut.

Dengan demikian zat pengganggu yang terlarut hanya sedikit (Depkes, 1986).

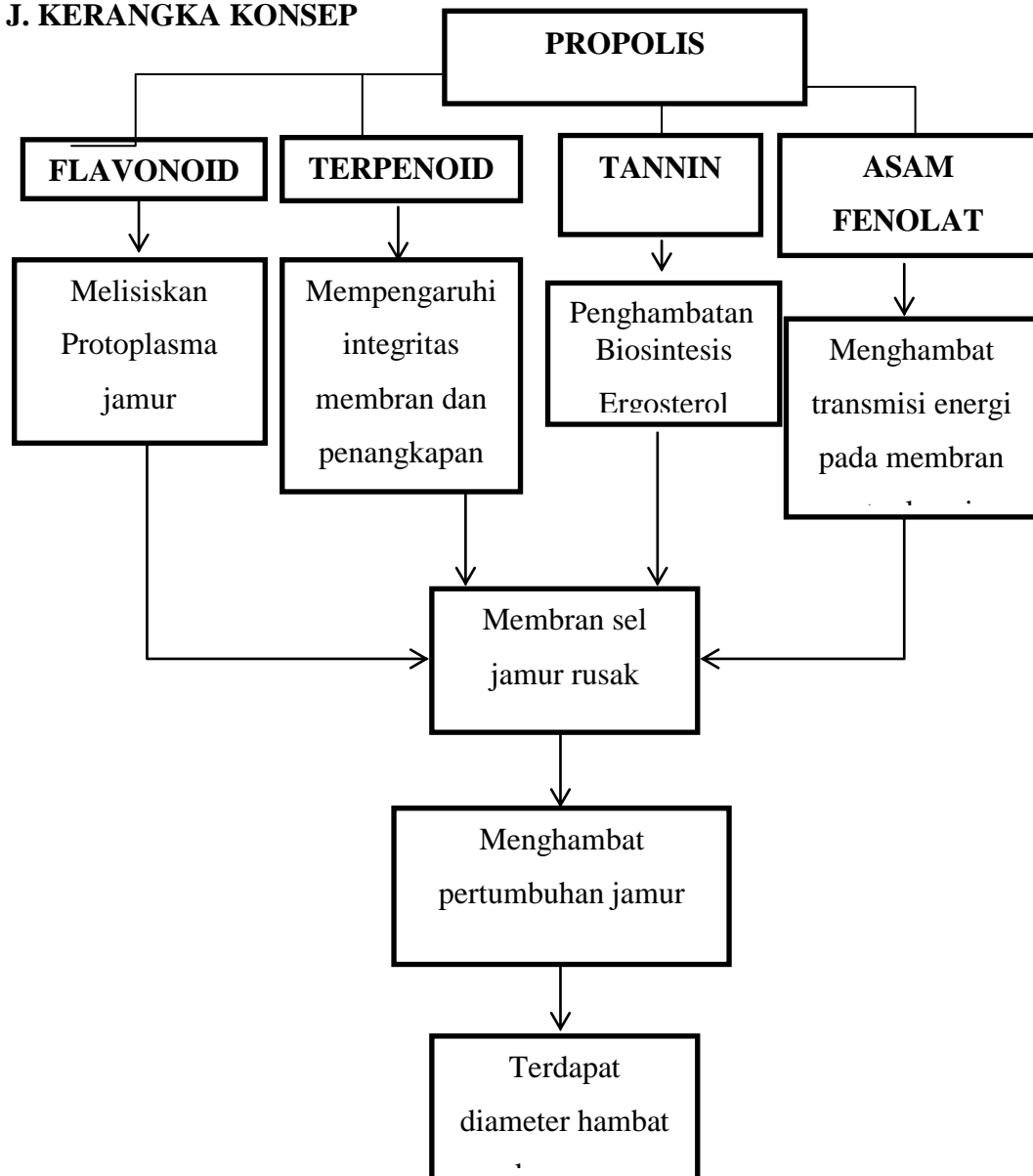
Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Keuntungan lain dari etanol mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim. Etanol (70%) sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turun kedalam cairan pengekstraksi (Voigt, 1995).

3. Metode ekstraksi

Metode dasar dari ekstraksi obat adalah maserasi dan perkolasi. Biasanya metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam proses memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat (Ansel, 1989).

Metode Maserasi (macerase = mangairi, melunakan) adalah cara ekstraksi yang paling sederhana (Voight, 1995).

Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan terlarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif dalam sel dengan yang diluar sel. Maka larutan yang terpekat akan terdesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan sederhana dan mudah diusahakan sedangkan kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes, 1986).

J. KERANGKA KONSEP

K. HIPOTESIS

Propolis mempunyai efek penghambatan terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale* secara *in vitro*.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. JENIS PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan *post test only control group design*. Desain penelitian ini dipilih karena tidak dilakukan pretes terhadap sampel sebelum perlakuan. Karena telah dilakukan randomisasi baik pada kelompok eksperimen dan kelompok kontrol; kelompok-kelompok tersebut dianggap sama sebelum dilakukan perlakuan. Dengan cara ini memungkinkan dilakukan pengukuran pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen yang satu dengan cara membandingkannya dengan kelompok eksperimen yang lain dan kelompok kontrol.

B. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Biomedik II, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta pada bulan Oktober-Desember 2011.

C. SUBJEK PENELITIAN

1. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah koloni jamur *Pityrosporum ovale* dan *Candida albicans* yang didapat dari Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta.

a. Teknik Sampling

Dalam penelitian ini digunakan teknik *simple random sampling*. Teknik ini diambil dengan pertimbangan bahwa setiap unit dari populasi yang akan diujikan bersifat homogen. Hal ini berarti setiap anggota populasi mempunyai kesempatan sama untuk diambil sebagai sampel.

b. Estimasi Besar Sampel

Jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan akan dihitung dengan menggunakan rumus Federer. Penelitian ini dilakukan sekaligus pada 6 kelompok dosis dan 2 kontrol.

Rumus Federer:

$$(n-1) \times (t-1) \geq 15$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok

n = jumlah sampel

maka perhitungan sampelnya adalah:

$$(n-1)(16-1) \geq 15 \rightarrow 15(n-1) \geq 15 \rightarrow n \geq 3 \text{ replikasi.}$$

Berdasarkan perhitungan tersebut diatas, maka dilakukan replikasi minimal adalah 3 kali replikasi.

(Scheidegger, 2008)

2. Ekstrak

Propolis mentah didapatkan dari peternakan lebah di daerah Sumenep.

Ekstraksi penelitian ini dilakukan di Biomedik IV Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta. Teknik pelarutan propolis diawali dengan pembuatan rendemen propolis dari propolis kasar yaitu merendam propolis dengan etanol 70%. Adapun konsentrasi propolis berturut-turut 10% b/v, 20% b/v, 40% b/v, 50% b/v, 80% b/v, 100% b/v (Krell, 1996).

D. IDENTIFIKASI VARIABEL

- Variabel bebas atau independent variabel dari penelitian ini adalah konsentrasi propolis dan pertumbuhan koloni *Pytosporum ovale* dan *Candida albicans*.
- Variabel terikat atau dependent variabel dari penelitian ini adalah diameter zona aktivasi *Pytosporum ovale* dan *Candida albicans* secara in vitro

c. Kontrol

Kontrol positif : ketokonazol

Kontrol negatif : DMSO

E. SKALA VARIABEL

- a. Skala Rasio dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol propolis dan diameter zona aktivasi propolis terhadap *Pytosporum ovale* dan *Candida albicans*

F. DEFINISI OPERASIONAL

- a. Efek antijamur: hasil yang ditimbulkan oleh suatu zat yang dapat menekan pertumbuhan jamur (Kumala,*et.al.*, 1998). Efek antijamur diuji dengan metode dilusi.
- b. Metode difusi : metode ini digunakan cakram antibiotic yang mengandung sejumlah obat tertentu yang kemudian diletakkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi dengan bakteri uji. Setelah diinkubasi dalam jangka waktu tertentu akan tampak zona hambat disekitar cakram (Jawett, 2005).
- c. Penelitian in vitro: penelitian ini dilakukan di luar jaringan hidup
- d. Ketokonazol: merupakan turunan imidazol sintetis. Obat ini bersifat liofilik dan larut dalam air pada PH asam. Merupakan antijamur sistemik per oral. Tersedia dalam sediaan tablet 200 mg, krim 2%, dan shampo 2% (Katzung, 2004).
- e. Propolis: merupakan resin lengket yang berasal dari batang pohon atau kulit kayu, dikumpulkan dan diproses dengan sekresi cairan ludah lebah. Setiap jenis lebah memiliki sumber resin tertentu yang ada di daerah masing-masing sehingga komposisi propolis sangat bervariasi (Marcucci, 1994).

G. Instrumen Penelitian

Pada penelitian Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Propolis Terhadap Pertumbuhan *Pytosporum ovale* dan *Candida albicans*

dibutuhkan untuk mengukur diameter zona aktivasi dari masing-masing 4 Kontrol dan 7 dosis propolis.

H. Alat dan Bahan

a. Alat Penelitian

Cawan petri berdiameter 20 cm (Assistant), Ohse kolong, Tabung reaksi 10 ml (Pyrex), Cawan porselin, Kertas saring, Corong, Gelas ukur 10 ml, 100 ml (Pyrex), Pengaduk kaca, Gelas ukur 25 ml (Pyrex), Pipet mikrometer berdiameter 50-20 ul (Eppendorf), Pipet ukur (Pyrex), Lampu spiritus, Standar Mc Farland I, Inkubator (Mettler), Autoklaf (Hirayama), DMSO, Timbangan gram (Ohaus).

b. Bahan Penelitian

Propolis, Sabaroud Dextrose Agar, NaCl fisiologi (Otsuka), Ketokonazol (Kimia Farma), Aquadest, etanol 70%

I. Cara Kerja

1. Persiapan Propolis

Berikut ini diuraikan secara runtun mengenai tahapan ekstraksi propolis.

- a. Siapkan propolis mentah (raw propolis) yang telah dibersihkan
- b. Rendam propolis dalam etanol 70%. Diamkan selama 3 hari sambil dikocok sesekali atau hingga terlarut. Pindahkan campuran ke dalam penyaring, dan jika sebagian besar cairan telah mengalir keluar, cuci residu pada penyaring dengan etanol, kumpulkan filtrate hingga diperoleh 1000 ml. lalu diremaserasi lagi. lalu filtrate tersebut diendapkan sehari lalu dievaporasi sehingga terbentuk ekstrak propolis. Ekstrak ini lalu diencerkan dengan menggunakan surfaktan nonionic (DMSO) 2% dan air. Adapun konsentrasi dosis pengenceran propolis berturut-turut 10% b/v, 20% b/v, 40% b/v, 50% b/v, 80% b/v, 100% b/v.
- c. Simpan wadah tersebut ditempat gelap dan hangat. Kocok campuran tersebut sebanyak 3-6 kali.

(Syamsuni, 2007; Randawa, 2008).

2. Persiapan Alat Uji Daya Antijamur

Alat-alat yang akan digunakan pada uji daya antibakteri terlebih dahulu dicuci bersih kemudian dikeringkan dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3. Persiapan Pembiakan Jamur *Candida Albicans* dan *Pityrosporum ovale*

a. Pembuatan media agar dari *Saboraud Dextrosa Agar*

1) Setiap 19,5 gram *Saboraud Dextrosa Agar* bubuk ditambahkan dengan 300 ml aquades, diaduk kemudian dipanaskan.

2) Larutan kloramfenikol ditambahkan pada *Saboraud Dextrose Agar* cair untuk mencegah tumbuhnya kuman kontaminan. Kloramfenikol yang diperlukan untuk 300 ml *Saboraud Dextrose Agar* = $\frac{300 \text{ ml} \times 400 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = 120 \text{ mg}$

Setiap 250 mg kloramfenikol dilarutkan dalam 10 ml NaCl 0,9 %, maka :

$$\text{NaCl 0,9 \% yang diperlukan} = \frac{120 \text{ mg} \times 10 \text{ ml}}{250 \text{ mg}} = 4,8 \text{ ml}$$

(Bridson, 1998)

3) *Saboraud Dextrose Agar* cair disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C bersama peralatan penelitian lain yang akan digunakan.

4) *Saboraud Dextrose Agar* cair dituang ke dalam 12 buah cawan petri yang telah disterilkan dan dibiarkan dingin.

5) Setelah itu dibuat 4 sumuran pada masing-masing cawan petri dengan diameter 6 mm.

b. Penanaman *Pityrosporum ovale* dan *Candida albicans*

Biakan subkultur *Pityrosporum ovale* diambil dengan menggunakan osche steril ke dalam larutan NaCl 0,9% sampai mencapai kekeruhan yang ekuivalen dengan 0,5 standar 0,5 *Mc Farland* untuk mendapatkan kepadatan $10^8 \text{ colony forming unit(cfu)/ml}$. Kemudian 0,2 ml sampel cair *Pityrosporum ovale* dituang kemasing-masing cawan petri yang berisi

Saboraud Dextrose Agar. Cawan petri digoyang untuk meratakan koloni. Hal ini juga dilakukan pada *Candida albicans*.

4. Persiapan Kontrol Ketokonazol

Ketokonazol yang digunakan berupa kapsul yang mengandung 200 mg ketokonazol. Hasil penelitian Qomariah (2008) menunjukkan bahwa ketokonazol pada konsentrasi optimal untuk menghambat pertumbuhan spesies *Pityosporum* dan *Candida* secara *in vitro*. Untuk mempersiapkan difusi kontrol positif ketokonazol dilakukan dengan cara:

Tambahkan 10 mg ketokonazol ke dalam 10 ml air steril, campur baik-baik sampai larut. Lalu tambahkan 0,05 ml larutan tersebut ke dalam sumuran.

5. Pelaksanaan Uji Antijamur

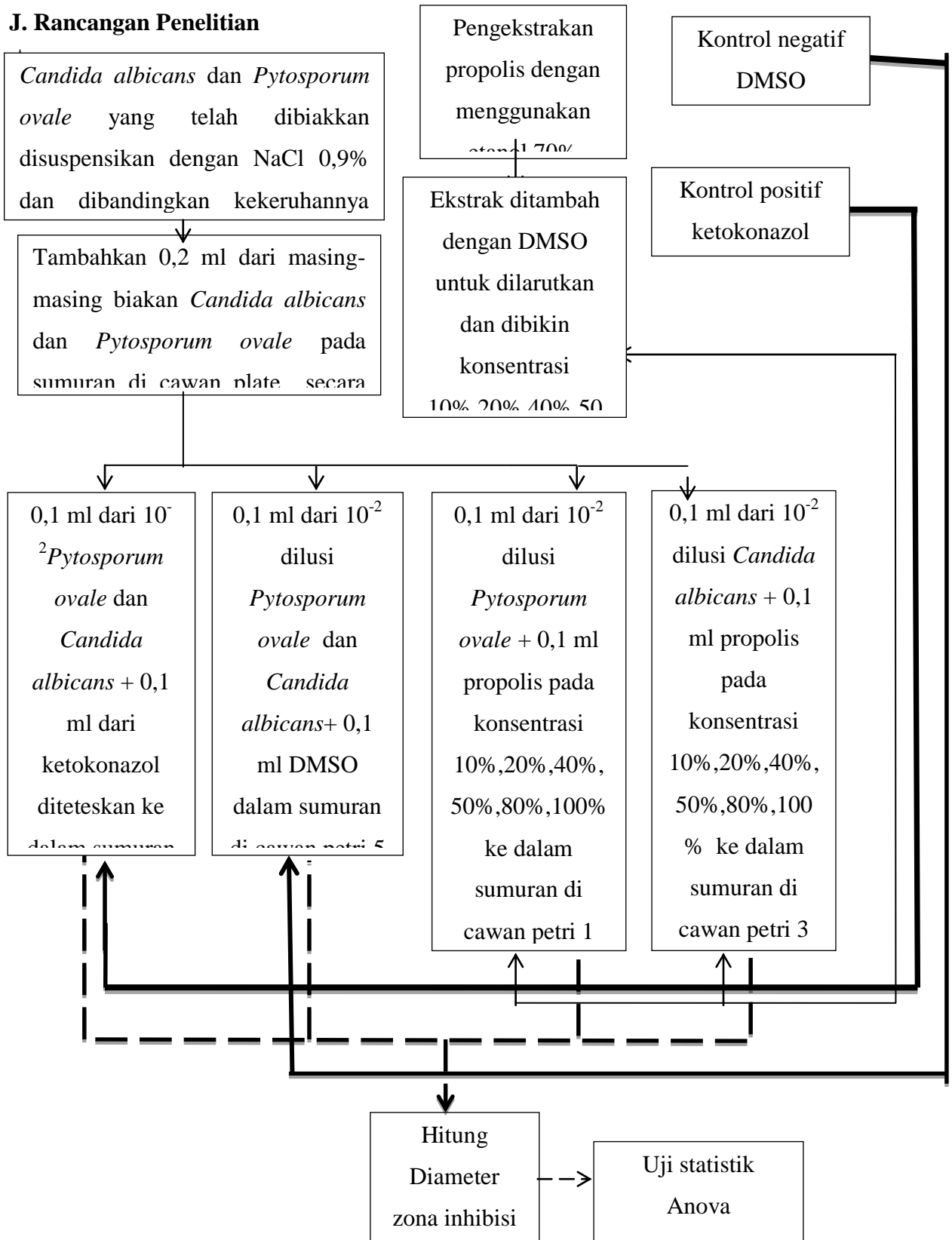
a. Pada penelitian ini peneliti menggunakan metode difusi dengan sumuran.

cara pengerjaan metode difusi dengan sumuran yaitu:

- 1) Siapkan plate media sabaroud agar, pada bagian bawah plate dibuat garis-garis pembagian dengan menggunakan spidol dan dilabeli masing-masing konsentrasi ekstrak. Kemudian masing-masing bagian dilubangi untuk membuat sumuran dengan diameter 6 mm. selanjutnya plate pertama dan kedua diolesi secara merata dengan jamur *Candida albicans* yang telah dibandingkan dengan standar Mc Farland. lalu, plate ketiga dan keempat diolesi secara merata dengan jamur *Pityrosporum ovale* yang telah dibandingkan dengan standar Mc Farland.
- 2) Lalu, pada masing-masing sumuran ditetaskan 0,05 ml ekstrak etanol sirih merah dengan konsentrasi 10% b/v, 20% b/v, 40% b/v, 50% b/v, 80% b/v, 100% b/v, control positif dan control negative. Selanjutnya plate diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan millimeter (mm).
- 3) Pada uji daya antifungi ekstrak propolis terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale* dilakukan sebanyak tiga kali

pengulangan sesuai dengan hasil perhitungan estimasi besar sampel.(Harmita, 2004)

J. Rancangan Penelitian



Keterangan;

→ : Perlakuan pada percobaan

→ : Kontrol positif

→ : Semua percobaan yang dihitung diameter hambatnya

→ : Penghitungan uji statistik

K. Analisis Data

Data yang diperoleh di analisis dengan menggunakan uji Anova jika tidak normal maka menggunakan uji nonparametric Kruskal-Wallis. Sebelumnya untuk mengetahui distribusi data normal atau tidak menggunakan uji Shapiro-Wilk dan untuk menguji homogeny atau tidak menggunakan lavene test. Setelah di uji dengan anova diteruskan dengan uji Mann-whitney sedangkan untuk membandingkan control dengan ekstrak menggunakan uji korelasi pearson jika tidak normal menggunakan uji spearman untuk mengetahui korelasi antar dosis dengan efek (Dahlan, 2009).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian mengenai efek antifungi ekstrak etanol propolis terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale* diperoleh hasil berikut:

1. *Candida albicans* 10% b/v, 20% b/v, 40% b/v, 50% b/v, 80% b/v, 100% b/v.

- a. Data penelitian

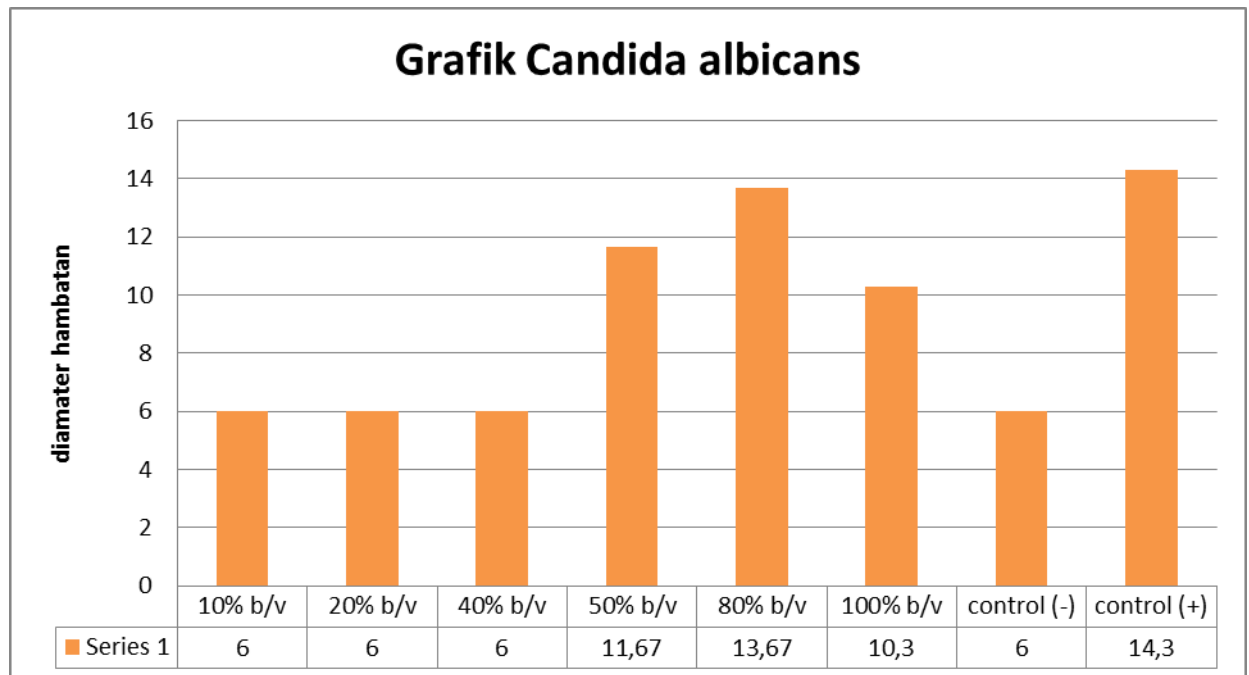
Hasil yang diperoleh adalah sebagai berikut :

Tabel 1 : Daya hambat antimikroba ekstrak propolis terhadap *Candida albicans* (mm)

Diameter Zona Antijamur								
Ulangan	Ekstrak propolis						Kontrol	Kontrol
	10%b/v	20%b/v	40%b/v	50%b/v	80%b/v	100%b/v	(+)	(-)
1	6	6	6	12	14	10	14	6
2	6	6	6	12	13	10	14	6
3	6	6	6	11	14	11	15	6
Rata-rata	6	6	6	11,7	13,7	10,3	14,3	6

Dari data diatas maka secara keseluruhan dapat diketahui bahwa pada biakan *Candida albicans* didapat rerata diameter daya hambat secara berurutan dari konsentrasi 10% hingga 100% dan kontrol (+) juga kontrol (-) adalah sebesar 6 mm, 6 mm, 6 mm, 10,3 mm, 11,7 mm, 13,7 mm, 14,3 mm, dan 6 mm. Pada konsentrasi dari 10%, 20%, dan 40% dapat didapatkan 6 mm pada setiap ulangan yaitu sama dengan diameter sumuran. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada kontrol negatif dan kelompok perlakuan yang menggunakan ekstrak propolis dengan konsentrasi 10%, 20% dan 40% tidak menunjukkan daya antifungi terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Sedangkan dari konsentrasi 50

%, 80%, dan 100% juga kontrol (+) semakin meningkat mencapai puncaknya di 80% dan menurun pada 100%.



Gambar 1. grafik dari hasil pengukuran diameter daya hambat ekstrak propolis terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*

b. Analisis data

Data penelitian kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji Anova yang termasuk uji parametrik. Terlebih dahulu syarat-syarat untuk melakukan uji Anova harus terpenuhi. Jika syarat uji Anova tidak terpenuhi maka menggunakan uji non parametrik Kruskal-wallis. Untuk mengetahui hubungan dosis dan efek digunakan uji korelasi yaitu uji pearson bila memenuhi syarat. Jika tidak memenuhi syarat maka digunakan uji alternatif yaitu uji korelasi spearman. Data diolah dengan SPSS 16.0 for Windows. Hasil perhitungan dapat dilihat di lampiran.

1. Uji Normalitas dengan *Shapiro-wilk* (karena sampel <50)

Data tersebut lalu diuji dengan uji normalitas *Shapiro Wilk*. Hasil analisis menunjukkan *Saphiro Wilk* hitung = 0,685 ternyata mempunyai nilai p (sig.) = 0,000. Nilai p tersebut < 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa distribusi data yang ada “tidak normal”.

2. Uji Homogenitas dengan menggunakan *Lavene Test*

Hasil analisis menunjukkan Lavene test hitung = 10,122 memiliki $P(\text{sig}) = 0,000$ Oleh karena itu $P < 0,05$ maka disimpulkan bahwa varian data “tdk homogen”.

3. Uji Non Parametric *Kursskal Wallis*

Uji *Kruskal Wallis* digunakan untuk membandingkan data delapan kelompok sekaligus yang tidak saling berhubungan.

H0: tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara delapan kelompok perlakuan.

H1: terdapat perbedaan yang bermakna antara delapan kelompok perlakuan.

Pengambilan keputusan:

Jika probabilitas $> 0,05$ maka H0 diterima.

Jika probabilitas $< 0,05$ maka H0 ditolak.

Pada uji ini didapatkan nilai p (asyp. sig.) = 0,002. Nilai p tersebut $< 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa terdapat “perbedaan daya antifungi yang bermakna antara delapan kelompok perlakuan”.

4. Uji Mann-whitney

Uji *Mann Whitney* digunakan untuk membandingkan perbedaan antara masing-masing kelompok.

H0: tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok perlakuan.

H1: terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok perlakuan.

Pengambilan keputusan:

Jika probabilitas $> 0,05$ maka H0 diterima.

Jika probabilitas $< 0,05$ maka H0 ditolak.

Tabel 2. Hasil Uji Non Parametrik *Mann Whitney*

No	Kelompok Perlakuan	N	P (Asymp. Sig.)	Hasil Uji
1	Kontrol (-) - konsentrasi 50%	3	0,034	berbeda bermakna
2	Kontrol (-) - konsentrasi 80%	3	0,034	berbeda bermakna
3	Kontrol (-) - konsentrasi 100%	3	0,034	berbeda bermakna

4	Kontrol (+) - konsentrasi 10%	3	0,034	berbeda bermakna
7	Kontrol (+) - konsentrasi 20%	3	0,034	berbeda bermakna
8	Kontrol (+) - konsentrasi 40%	3	0,034	berbeda bermakna
9	Kontrol (+) – konsentrasi 50%	3	0,043	berbeda bermakna
10	Kontrol (+) - konsentrasi 80%	3	0,197	Tidak berbeda
11	Kontrol (+) - konsentrasi 100%	3	0,043	berbeda bermakna

Pada uji yang dilakukan dengan pembandingan kontrol negatif (-) digunakan untuk menilai daya antifungi secara statistik. Pada konsentrasi ekstrak 10% b/v, 20% b/v dan 40% b/v didapatkan nilai p (asyp. sig.) = 1,000. Nilai p tersebut $> 0,05$ maka disimpulkan bahwa ketiga konsentrasi ekstrak tersebut tidak mempunyai daya antifungi yang bermakna secara statistik. Sedangkan pada konsentrasi ekstrak 50% b/v hingga 100% b/v didapatkan nilai p (asyp. sig.) = 0,034. Nilai p tersebut $< 0,05$ maka disimpulkan bahwa ketiga konsentrasi tersebut mempunyai daya antifungi yang bermakna secara statistik.

Pada uji yang dilakukan dengan pembandingan kontrol positif (+) digunakan untuk menilai besarnya potensi daya antifungi. Pada konsentrasi ekstrak 10% b/v, 20% b/v, 40% b/v didapatkan nilai p (asyp. sig.) = 0,034. Nilai p tersebut $< 0,05$ maka terdapat perbedaan daya antifungi yang bermakna secara statistik dibandingkan dengan kontrol positif sehingga dapat disimpulkan bahwa potensi daya antifungi pada konsentrasi ekstrak ini masih kurang efektif. Sedangkan, pada konsentrasi 50% dan 100% didapatkan sig = 0,043. Nilai p tersebut $< 0,05$ maka pada konsentrasi 50% dan 100% juga terdapat perbedaan daya antifungi yang bermakna secara statistik dibandingkan dengan kontrol positif dimana berarti potensi daya antifungi pada konsentrasi ini juga kurang efektif. Namun, pada konsentrasi ekstrak dengan daya antifungi tertinggi yaitu 80% b/v didapatkan nilai p (asyp. sig.) = 0,197. Nilai p tersebut $> 0,05$ menunjukkan tidak terdapat perbedaan daya antifungi yang bermakna secara statistik sehingga dapat disimpulkan bahwa potensi daya antifungi pada konsentrasi ekstrak 80% b/v tidak jauh berbeda apabila dibandingkan dengan kontrol positif.

Perhitungan di atas menunjukkan bahwa ekstrak etanol etanol propolis dengan konsentrasi 10% b/v hingga 100% b/v mempunyai daya antifungi yang bermakna secara statistik. Apabila dibandingkan dengan ketokonazol sebagai kontrol positif, potensi daya antifungi ekstrak cukup efektif. Hal tersebut dapat dilihat bahwa konsentrasi ekstrak 80% b/v mempunyai potensi daya antifungi terhadap jamur *Candida albicans* yang tidak jauh berbeda dengan ketokonazol.

5. Uji Korelasi Spearman

Uji korelasi spearman digunakan untuk menguji korelasi dosis dengan efek pada *Candida albicans*. Karena distribusi data tidak normal maka menggunakan uji spearman.

Dari hasil didapatkan nilai $\text{sig} = 0,28$ yang menunjukkan bahwa korelasi antara efek dan dosis adalah tidak bermakna. Nilai korelasi spearman sebesar 0,448 menunjukkan bahwa arah korelasi positif dengan kekuatan korelasi yang sedang.

. 2. *Pityrosporum ovale* 10% b/v, 20% b/v, 40% b/v, 50% b/v, 80% b/v, 100% b/v.

a. Data penelitian

Hasil yang diperoleh adalah sebagai berikut :

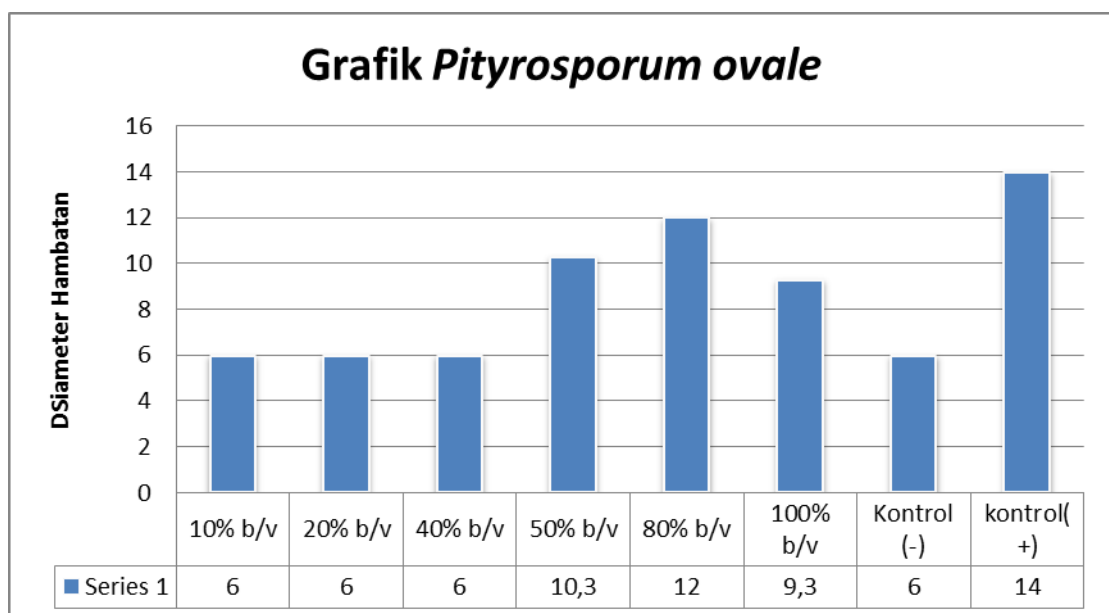
Tabel 3. Daya hambat antimikroba ekstrak propolis terhadap *Pityrosporum ovale*.

Diameter Zona Antijamur								
Ulangan	Ekstrak propolis						Kontrol	Kontrol
	10%b/v	20%b/v	40%b/v	50%b/v	80%b/v	100%b/v	(+)	(-)
1	6	6	6	10	12	9	14	6

2	6	6	6	11	12	10	14	6
3	6	6	6	10	12	9	14	6
Rata-rata	6	6	6	10,3	12	9,3	14	6

Dari data diatas maka secara keseluruhan dapat diketahui bahwa pada biakan *Pityrosporum ovale* didapat rerata diameter daya hambat secara berurutan dari konsentrasi 10% hingga 100% dan kontrol (+) juga kontrol (-) adalah sebesar 6 mm, 6 mm, 6 mm, 10,3 mm, 12 mm, 9,3 mm, 14 mm, dan 6 mm. Pada konsentrasi dari 10%, 20%, dan 40% dapat didapatkan 6 mm pada setiap ulangan yaitu sama dengan diameter sumuran. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada kontrol negatif dan kelompok perlakuan yang menggunakan ekstrak propolis dengan konsentrasi 10%, 20% dan 40% tidak menunjukkan daya antifungi terhadap pertumbuhan jamur *Pityrosporum ovale*. Sedangkan dari konsentrasi 50 %, 80%, dan 100% juga kontrol (+) semakin meningkat seiring dengan meningkatnya kadar konsentrasi ekstrak dan sedikit menurun pada 100% ekstrak.

46



Gambar 2. Grafik dari hasil pengukuran diameter daya hambat ekstrak propolis terhadap *Pityrosporum ovale*

Analisis data

Data penelitian kemudian dianalisis secara statistic dengan menggunakan uji Anova yang termasuk uji parametrik. Terlebih dahulu syarat-syarat untuk melakukan uji Anova harus terpenuhi. Jika syarat uji Anova tidak terpenuhi maka menggunakan uji non parametrik Kruskal-wallis. Untuk mengetahui hubungan dosis dan efek digunakan uji korelasi yaitu uji pearson bila memenuhi syarat. Jika tidak memenuhi syarat maka digunakan uji alternatif yaitu uji korelasi spearman. Data diolah dengan SPSS 16.0 *for Windows*. Hasil perhitungan dapat dilihat di lampiran.

6. Uji Normalitas dengan *Shapiro-wilk* (karena sampel <50)

47

Data tersebut lalu diuji dengan uji normalitas *Shapiro Wilk*. Hasil analisis menunjukkan *Saphiro Wilk* hitung = 0,616 ternyata mempunyai nilai $p \text{ (sig.)} = 0,000$. Nilai p tersebut $< 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa distribusi data yang ada “tidak normal”.

7. Uji Homogenitas dengan menggunakan *Lavene Test*

Hasil analisis menunjukkan Lavene test hitung = 13,714 memiliki $p(\text{sig}) = 0,000$ Oleh karena itu $p < 0,05$ maka disimpulkan bahwa varian data “tdk homogen”.

8. Uji Non Parametric *Kursskal Wallis*

Uji *Kruskal Wallis* digunakan untuk membandingkan data delapan kelompok sekaligus yang tidak saling berhubungan.

H_0 : tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara delapan kelompok perlakuan.

H_1 : terdapat perbedaan yang bermakna antara delapan kelompok perlakuan.

Pengambilan keputusan:

Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima.

Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak.

Pada uji ini didapatkan nilai $p \text{ (asyp. sig.)} = 0,002$. Nilai p tersebut $< 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa terdapat “perbedaan daya antifungi yang bermakna antara delapan kelompok perlakuan”.

9. Uji *Mann Whitney*

Uji *Mann Whitney* digunakan untuk membandingkan perbedaan antara masing-masing kelompok.

H0: tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok perlakuan.

H1: terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok perlakuan.

Pengambilan keputusan:

jika probabilitas $> 0,05$ maka H0 diterima.

Jika probabilitas $< 0,05$ maka H0 ditolak.

48

Tabel 3. Uji Non Parametrik *Mann Whitney*

No	Kelompok Perlakuan	N	P (Asymp. Sig.)	Hasil Uji
1	Kontrol (-) - konsentrasi 50%	3	0,034	berbeda bermakna
2	Kontrol (-) - konsentrasi 80%	3	0,025	berbeda bermakna
3	Kontrol (-) - konsentrasi 100%	3	0,034	berbeda bermakna
4	Kontrol (+) - konsentrasi 10%	3	0,025	berbeda bermakna
7	Kontrol (+) - konsentrasi 20%	3	0,025	berbeda bermakna
8	Kontrol (+) - konsentrasi 40%	3	0,025	berbeda bermakna
9	Kontrol (+) - konsentrasi 50%	3	0,034	berbeda bermakna
10	Kontrol (+) - konsentrasi 80%	3	0,025	berbeda bermakna
11	Kontrol (+) - konsentrasi 100%	3	0,034	berbeda bermakna

Pada uji yang dilakukan dengan pembandingan kontrol negatif (-) digunakan untuk menilai daya antifungi secara statistik. Pada konsentrasi ekstrak 10% b/v, 20% b/v dan 40% b/v didapatkan nilai p (asyp. sig.) = 1,000. Nilai p tersebut $> 0,05$ maka disimpulkan bahwa ketiga konsentrasi ekstrak tersebut tidak mempunyai daya antifungi yang bermakna secara statistik. Sedangkan pada konsentrasi ekstrak 50% b/v dan 100% b/v didapatkan nilai p (asyp. sig.) = 0,034 sedangkan konsentrasi ekstrak 80% p (asyp.sig) = 0,025. Nilai p tersebut $< 0,05$ maka disimpulkan bahwa keempat konsentrasi tersebut mempunyai daya antifungi yang bermakna secara statistik.

Pada uji yang dilakukan dengan pembandingan kontrol positif (+) digunakan untuk menilai besarnya potensi daya antifungi. Pada

konsentrasi ekstrak 10% b/v, 20% b/v, 40% b/v dan 80% b/v didapatkan nilai p (asympt. sig.) = 0,025 Pada ekstrak etanol propolis dengan konsentrasi 50% b/v dan 100% b/v di dapatkan nilai sig = 0,034. Nilai p tersebut $< 0,05$ maka terdapat perbedaan daya antifungi yang bermakna secara statistik dibandingkan dengan kontrol positif sehingga dapat disimpulkan bahwa potensi daya antifungi pada konsentrasi ekstrak ini masih kurang efektif.

49

10. Uji Korelasi Spearman

Uji korelasi spearman digunakan untuk menguji korelasi dosis dengan efek pada *Pityroporum ovale*. Karena distribusi data tidak normal maka menggunakan uji spearman.

Dari hasil didapatkan nilai sig = 0,23 yang menunjukkan bahwa korelasi antara efek dan dosis adalah tidak bermakna. Nilai korelasi spearman sebesar 0,462 menunjukkan bahwa arah korelasi positif dengan kekuatan korelasi yang sedang.

C. PEMBAHASAN

Pada penelitian ini biakan *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale* dibagi menjadi 8 kelompok yang masing-masing diberi perlakuan yang berbeda. Kelompok pertama sampai keenam masing-masing diberi ekstrak propolis dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 50%, 80%, 100%. Kontrol positif menggunakan ketokonazol dan kontrol negatif menggunakan DMSO.

Pada kelompok pertama sampai ketiga dari *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale* tidak terbentuk zona hambat yaitu dimulai dari konsentrasi 10% b/v, 20% b/v, 40% b/v yang terbentuk hanya 6 mm sesuai dengan diameter sumuran. Hal ini berbeda dari penelitian sebelumnya pada penelitian yang dilakukan Marcucci (1994) Propolis menunjukkan aktivitas antijamur penting terhadap *Trichophyton* dan *Mycrosporum* di dalam propilen glikol, yang berinteraksi secara sinergis pada konsentrasi 5%. Sebaliknya pada kelompok keempat sampai keenam terbentuk zona hambatan di mulai dari konsentrasi 50% b/v, 80 % b/v, 100% b/v dimana berturut-turut diameter rata-rata pada *Candida albicans* 11,7 mm, 13,7 mm dan 10,3 mm pada *Pityrosporum ovale* diameter rata-rata berturut-turut 10,3 mm, 12 mm, dan 9,3 mm. Hal ini sesuai dengan hipotesis awal dimana dari hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak propolis memiliki efek penghambatan terhadap *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*. Peningkatan penghambatan dimulai pada pemberian propolis 50% yaitu rata-rata 11,7 mm untuk *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale* 10,3 mm, mencapai puncaknya pada konsentrasi 80 % pada *Candida albicans* 13,67 mm dan *Pityrosporum ovale* 12 mm lalu menurun pada konsentrasi 100% menjadi 10,3 mm dan 9,3 mm.

Menurut Trimujoko (2005), aktivitas antijamur dikategorikan mempunyai sensitivitas rendah jika diameternya 6-9 mm, lalu dikategorikan sedang jika diameternya antara 9-12 mm dan dikategorikan sensitivitas tinggi jika zona hambat mencapai >12 mm. Berdasarkan dari kategori di atas maka ekstrak propolis konsentrasi 50% pada *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale* dikategorikan sensitivitas sedang dan pada konsentrasi 80% untuk *Candida albicans* di kategorikan sensitivitas tinggi sedangkan untuk *Pityrosporum ovale*

sensitivitas sedang. Lalu, pada konsentrasi 100% dikategorikan sensitivitas sedang. Penurunan diameter zona hambat pada konsentrasi 100% disebabkan oleh kemampuan ekstrak untuk berdifusi ke dalam media agar terbatas karena ekstrak terlalu pekat. Pada konsentrasi tinggi, ikatan antar molekul semakin kuat sehingga menyebabkan senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak berukuran lebih besar akibatnya, molekul molekul tersebut tidak mampu menembus pori-pori medium agar yang pada akhirnya pengrusakan membran sel jamur oleh senyawa aktif yang dikandung propolis tidak maksimal (Maleki, *et.al.*, 2008). Pada penelitian ini didapatkan penambahan konsentrasi ekstrak etanol propolis tidak selalu mempunyai diameter zona hambat yang panjang dimana berarti bertambahnya konsentrasi ekstrak tidak selalu mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*.

Senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak propolis memiliki aktivitas antifungi yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*. Propolis merupakan mineral yang berasal dari metabolit sekunder yang terkandung di dalam tumbuhan yang diambil oleh lebah dan di lekatkan pada sarangnya. Berguna sebagai disinfektan alamiah bagi sarang lebah (Dimov, 1992).

Ekstrak propolis yang diperoleh melalui proses maserasi dengan menggunakan etanol 70% terbukti efektif menghambat *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*. Etanol 70% merupakan pelarut organik yang bersifat semipolar sehingga dapat mengikat senyawa-senyawa polar dan sedikit nonpolar termasuk flavonoid, terpenoid, tannin, asam fenolat (Depkes, 2000). Kandungan 52 yang terdapat pada propolis menurut penelitian yaitu Flavonoid, CAPE, Terpenoid dan Tannin.

Kandungan flavonoid dalam propolis bervariasi sekitar 10-20%. Kandungan tersebut merupakan yang terbanyak dibandingkan kandungan flavonoid dalam produk lebah lain (Marcucci, 1994). Pada penelitian yang dilakukan Sohn, *et al.*, (2010) sejenis flavonoid yaitu Papyriflavonol A mampu mengganggu integritas membran sel dan melisiskan membran sel *Candida albicans*. Sedangkan Asam *Caffeic Phenethyl Ester* (CAPE) adalah salah satu senyawa terbesar yang ada

dalam propolis dan merupakan jenis asam fenolat. Dari penelitian Santos,*et al.* (2005) Komponen utama dari propolis adalah flavonoid dan asam fenolat, termasuk *caffeic acid phenylethylester* (CAPE) yang kandungannya mencapai 50% dari seluruh komposisi. Sebagai komponen aktif propolis, CAPE memiliki kegiatan biologis dan farmakologis termasuk anti-inflamasi, antivirus, antibakteri dan antitumor. Penelitian yang dilakukan Toenjes,*et al.*, (2009) *Asam caffeic* merupakan inhibitor yang sangat ampuh menghambat *12-lipoxygenase* dimana *lipoxygenase* dibutuhkan *Candida albicans* untuk jalur enzimatik menginvasi sel endotelial manusia.

Aktivitas antijamur terpenoid dilaporkan Zore,*et al.*,(2011) Pengujian terpenoid terhadap morfologi sel *Candida albicans* pada fase yang berbeda dari siklus sel yaitu induksi linalool dan LA di G1, sitral dan sitronelal pada fase S dan benzil benzoat pada fase G2-M sehingga menyebabkan apoptosis pada sel *Candida albicans*.

Pengujian aktifitas antijamur terhadap *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, dan *Cryptococcus neoformans*, menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tanin terhidrolisiskan dan flavonoid memiliki variasi aktifitas yang berbeda-beda tergantung jenis senyawa dan jenis mikroba sasaran. Ellagitannin dan korilagin memiliki aktifitas yang sama dengan amfotericin B dan ketokonazol terhadap *Candida glabrata* (Latte, 2000).

Sedangkan kelompok ketujuh diberi ketokonazol 200 mg yang digerus dan ditambahkan aquadest sebagai kontrol positif dan kelompok kedelapan diberi perlakuan dengan DMSO sebagai kontrol negatif. Berdasarkan hasil pada Tabel 1 dan 2 dapat dilihat bahwa pada kelompok kedelapan yang menggunakan DMSO sebagai kontrol negatif tidak terdapat zona hambat di sekitar sumuran. Hal ini menunjukkan bahwa DMSO tidak menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* maupun *Pityrosporum ovale*. Dimetil Sulfoksida (DMSO) adalah senyawa yang mempunyai toksisitas yang rendah dan dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar. Maka dari itu, larutan ini banyak digunakan sebagai pelarut dalam penelitian. ekstrak yang dilarutkan dalam DMSO tidak akan mempengaruhi

pertumbuhan jamur, sehingga tidak akan membentuk diameter zona hambat yang melebihi diameter sumuran (Randawa,*et.al*,2008).

Sebaliknya, pada kelompok ketujuh yang menggunakan ketokonazol 200 mg sebagai kontrol positif menunjukkan zona hambat rata-rata sebesar 14,3 mm pada *Candida albicans* dan 14 mm pada *Pityrosporum ovale*. Menurut Setiabudi (2007) anti jamur sintetik azol menghambat jamur dengan menghambat biosintesis lipid jamur,terutama ergosterol pada membran sel. Sehingga perubahan permeabilitas membran sel ini mengakibatkan hilangnya materi interseluler pada sel. Digunakannya Ketokonazol sebagai kontrol positif dikarenakan persamaan mekanisme kerja dari senyawa kimia yang terkandung di dalam ekstrak propolis dimana kandungan propolis seperti flavonoid, terpenoid, tannin dan asam fenolat juga dapat merusak dan mengganggu struktur membran sel jamur *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*. (Cushnie, 2005; Zaeemzadeh, *et al.*, 2011; Sohn,*et al.*, 2010).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Ekstrak etanol propolis mulai dari konsentrasi 50%, 80%, dan 100% mempunyai daya antifungi terhadap *Candida albicans* berturut-turut sebesar 11,7 mm, 13,7 mm, 10,3 mm dan *Pityrosporum ovale* berturut-turut sebesar 10,3 mm, 12 mm, 9,3 mm.
2. Konsentrasi ekstrak propolis 80% mempunyai daya hambat tertinggi yaitu sebesar 13,7 mm terhadap jamur *Candida albicans*. Ekstrak propolis pada konsentrasi sama menghambat pertumbuhan koloni jamur *Pityrosporum ovale* tetapi tidak signifikan.

B. Saran

Setelah dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antifungi ekstrak propolis. Terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale* secara *in vitro*, maka penulis menganjurkan untuk :

1. Dilakukan penelitian untuk meneliti aktivitas antifungi dari propolis lebih dari tempat yang berbeda.
2. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai kandungan zat aktif dari propolis yang memiliki aktifitas antifungi yang lebih spesifik dan mekanisme penghambatannya.
3. Dilakukan penelitian serupa dengan menggunakan metode dilusi sehingga dapat diketahui hasil kualitatifnya untuk menunjukkan jumlah antifungi yang dibutuhkan untuk mematikan jamur.
4. Perlu dilakukan uji daya lain yaitu antibakteri, antivirus dan antitumor untuk mengetahui aktifitas lainnya dari ekstrak etanol propolis yang lebih poten.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiguna, MS. Epidemiologi dermatomikosis di Indonesia. Dalam: Budimulja U, Kuswadi, Bramono, K; Menaldi, SL; Dwihastuti, P; Widaty, S. *Dermatomikosis superfisialis : pedoman untuk dokter dan mahasiswa kedokteran*. Jakarta: Balai penerbit FK UI, 2004: 5-6.
- Abramovits, W; Elewski, B; Scheinfeld, N. 2009. *Control Of Seborrheic Dermatitis*. www.practicaldermatology.com.
- Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi IV. Jakarta : Penerbit Universitas Indonesia. Hal: 605. 607
- Ashbee, H. Ruth ; Evans, E. Glyn V. 2002. Immunology of Diseases Associated with *Malassezia* Species. *Clinical microbiology reviews* Vol. 15,, p. 21–57.
- Bennet, J.E. 1996. *Antimicrobial agent: Antifungal Agent*. Di dalam: Goodman and Gilman's the pharmacological basic therapeutics Ed.9. New York: McGraw-Hill Companies.
- Bratawidjaja, K.G. 2010. *Imunologi Dasar Ed. 9*. FKUI: Jakarta
- Bridson, E.Y. 1998. *The Oxoid Manual 8th Edition*. Oxoid Limited Hampshire: England
- Brooks, G. 2007. *Medical Microbiology 24th Ed*. Mc Graw Hill. Pp 642-5
- Brunke, S; Hube, B. 2006. MFLIP1, A Gene Encoding An Extracellular Lipase Of The Lipid-Dependent Fungus *Malassezia Furfur*. *Microbiology (2006)*, 152, 547–554.
- Burdock, G.A. 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis), *Food Chem. Toxicol.* 347–363
- [ChemNet](#) > [CAS](#) > 1401-55-4 Tannic acid
- Cushnie, T.P. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *In Journal. Antigen. Agent* 26 (2005) 343–356
- Dahlan, M.S. 2009. *Statistik Untuk Kedokteran dan kesehatan, ed.4*: Jakarta, Salemba Medika, pp 87-111
- Depkes, 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*: Jakarta. Departemen Kesehatan RI

- Depkes, 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta : Depkes RI pp 6-8, 10
- Dexa Medica. 2011..ketoconazole tablet 200 mg. www.dexa-medica.com
- Dimov V, Ivanovska N, Bankova V, Nikolov N, Popov S.1992. Immunomodulatory action of propolis: IV.Prophylatic activity against Gram-negative infections and adjuvant effect of water-soluble derivative. *Vaccine 10*, 817-823.
- Espinel-Ingroff A. Clinical relevance of antifungal resistance. *Infect. Dis. Clin.N. Am.* 1997; 11: 929-44.
- Fuliang HU,Hepburn HR,Xuan H, *et al* (2005). Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with Diabetes mellitus. *Pharmacol Res*, 51, 147-52.
- Hakim, Zainal. 1996. *Era Baru Pengobatan Dermatofitosis*. Dexa Medica; Vol.1 edisi 9
- Harbone, J.B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (Phytochemical Methods)*. Penerjemah:. Padmawinata, K. dan I.Soedino. Edisi ke-2. Bandung: Penerbit ITB
- Harmita. 2004. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.pp 5-9
- Hanum,Sri Y.M.2009.*Hubungan Kadar CD4 dengan Infeksi Jamur Superfisialis Pada Penderita HIV di RSUP H.Adam Malik Medan*.Departemen Ilmu Kesehatan Kulit Dan Kelamin Universitas Sumatera Utara RSUP H.Adam Malik Medan.Tesis.
- Hendi,N.K,*et.al*.2011.In vitro antibacterial and antifungal activity of Iraqi propolis. *Journal of Medicinal Plants Research 2011* pp.1-3
- Herman,M.J.2001.*Penyakit Hubungan Seksual akibat Jamur, Protozoa dan Parasit*.cdk.130:12
- Hoesada,I,*et.al*. 2000.*Rahasia Kekayaan Alam Untuk Kesehatan*. Jakarta: High Desert. 2000:33.

- Ilhan A, Akyol O, Gurel A, et al. 2004. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester against experimental allergic encephalomyelitis-induced oxidative stress in rats. *Free Radic Biol Med*, 37, 386-94.
- Jawet, Melnick, Adelberg. 2005. *Mikologi Kedokteran*. Dalam: Sjabana D editor. *Mikrobiologi Kedokteran. 1st ed*. Jakarta: Salemba Medika;. p. 313-59.
- Johnson, B.A. Nunley, J.R. 2000. Treatment Of Seborrheic Dermatitis. *Am Fam Physician* 2000;61:2703-10,2713-4.
- Katzung, B.G. 2004. *Basic And Clinical Pharmacology*. Edisi ke 9. New York : McGraw-Hill : 795-7
- Kayser, FH, Bienz, K.A., Eckert, J., & Zinkernagel, R.M. 2005. *Fungi As Human Pathogen: Medical Microbiology*. New York, Thieme Stuttgart.
- Kindo, AJ; Sophia, SKC. 2004. Identification Of *Malassezia* Species. *Indian Journal of Medical Microbiology*, (2004) 22 (3):179-18.
- Krell, R. 1996. *Value-Added Products From Beekeeping*; FAO Agricultural Services Bulletin No. 124 . Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome.
- Koch, H., C. Corcoran ,M. Jonker. 2011. Honeydew collecting in Malagasy stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) and observations on competition with invasive ants. *African Entomology* 19(1): 36–41
- Kumala, Poppy, et al. 1998. *Kamus Kedokteran Dorland*. Penerbit buku kedokteran EGC: Jakarta
- Latte, K.P. and H. Kolodziej. 2000. Antifungal effects of hydrolysable tannins and related compounds on dermatophytes, mould fungi, and yeasts. *Z. Naturforsch* 55 c: 467–472.
- Maenza JR, Merz WG, Romagnoli MJ, Keruly JC, Moore RD, Gallant JE. 1997. Infection Due To Fluconazole-Resistant Candida In Patients With AIDS: Prevalence And Microbiology. *Clin. Infect. Dis.* 1997; 24: 28–34.
- Maleki, et al., 2008. Antibacterial Activity of The fluid of The Iranian *torillia leptophylla* Against Some clinical pathogen. *Pakistan Journal of Biological Science*, 11, (9), 1286-1289

- Marcucci,MC.1994.Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Biological Chemistry Laboratory*, Chemical Institute of Universty of Campinas.Brazil
- Marquez N, Sancho R, Macho A,*et.al.*2004. Caffeic acid phenethyl ester inhibits T-cell activation by targeting both nuclear factor of activated T-cells and NF- κ B transcription factors. *J Pharmacol Exp Ther (JPET)*, 308, 993-1001
- Mashburn,J.2006.Etiology,Diagnosis, and Management of Vaginitis:Vulvovaginal Candidiasis. 2006;51(6):423-430.*Elsevier Science*, Inc.
- Mello,A.M,*et.al.*2006.The Effect Of Brazilian Propolis On The Germ Tube Formation And Cell Wall Of Candida Albicans.(2006).*Pharmacologyonline* 3: 352-358
- Oliveira,AP,*et al.*,2006. Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. 101(5): 493-497, August 2006.
- Price,S.A,*et.al.*2006.*Patofisiologi Konsep Klinis Proses Penyakit*.EGC:Jakarta
- Popova,M.P.2007.Chemical characteristics of poplar type propolis of different geographic origin. *Apidologie* 38 (2007) 306– 311
- Qomariah,L.N,*et.al.*2008.Uji Sensitivitas Beberapa Obat Antifungal Golongan Azole terhadap dermatofita di Poliklinik RS Dr. Sardjito Yogyakarta.*Berkala Ilmu kesehatan Kulit dan Kelamin*.Vol.20 No.30 Tahun 2008.
- Randawa,M.A, 2008.Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Inhibits the Germination of *Candida albicans* and the Arthrospores of *Trichophyton mentagrophytes*.*Jpn. J. Med. Mycol.* Vol. 49, 125 – 128
- Rex JH, Arikan S. 2003. *Antifungal agents*. Di dalam : Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, ed. *Manual Of Clinical Microbiology*. Edisi ke 8. Washington DC : ASM Press, : 1860-1.
- Richardson MD, Shankland ES. 1991. Epidemiology and Pathogenesis of Candidosis. *Candida Today*: 3-7.
- Rippon JW.1998.*Medical Mycology*. WB Saunders Co. Philadelphia.; 532-75
- Saifuddin,A ,*et al.*2011.*Standarisasi Bahan Obat Alam*.Jogjakarta:Graha Ilmu

- Scheidegger, Carlos E, *et.al.* 2008. *Revisiting Histograms and Isosurface Statistics*. Science Foundation Ireland
- Setiabudi, Rianto, Bahry, Baroelim. 2007. *Obat Jamur*. Dalam: Sulistia Gan Gunawan. *Farmakologi dan terapi*. Ed.5. Jakarta. FK UI.
- Slavin, M; Fastenau, J; Sukarom, I; Mavros, P; Crowley, S. Burden of hospitalization of patients with *Candida* and *Aspergillus* infections in Australia. *Int J Infect Dis*. 2004; 8:111–120.
- Sohn, Ho-Yong, *et.al.* 2010. Fungicidal Effect of Prenylated Flavonol, Papyriflavonol A, Isolated from *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent. Against *Candida albicans*. *J. Microbiol. Biotechnol.* (2010), 1397–1402
- Sulistyowati S, D. Gunawan. 2001. Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* A. Gray) terhadap *Candida albicans* serta Profil Kromatografinya. *Cermin Dunia Kedokteran No. 130*
- Syamsuni, H.A. 2007. *Ilmu Resep*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Tjampakasari, C.R. 2006. Karakteristik *Candida albicans*. *Cermin Dunia Kedokteran No. 151*, 2006:33
- Toenjes, K.A, *et.al.* 2009. Inhibitors of cellular signalling are cytotoxic or block the budded-to-hyphal transition in the pathogenic yeast *Candida albicans*. *J Med Microbiol*. 2009 June; 58(Pt 6): 779–790.
- Tortora, G.J, 2002. *Microbiology An Introduction*, 734-736, Pearson Education, San Francisco
- Trimujoko, 2005. Pemanfaatan Actinomycetes Antagonis Sebagai Pengendali Hayati *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* Pada Tanaman Tomat. Tesis, Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya. Malang.
- Vidotto, et al. 2003. *Adherence Of Candida Albicans And Candida Dubliniensis To Buccal And Vaginal Cells*, Rev Iberoam Micol., Torino.
- Voight, R. 1971. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta : UGM pp. 560
- Santos, V. R. .et al. 2005. *Oral Candidiasis Treatment with Brazilian Ethanol Propolis Extract*. Department of Clinical Pathology and Surgery, Laboratory of Microbiology, Dentistry School, Minas Gerais Federal University. Brazil

- Zaeemzadeh, N, et.al. 2011. Protective Effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on Amiodarone-Induced Pulmonary Fibrosis in Rat. *Iranian Jour of Pharm Research* (2011), 10 (2): 321-328
- Zore, G.B, et.al. 2011. Terpenoids inhibit *Candida albicans* growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle. *Phytomedicine* (2011) PMID 21596542